Aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Direktor: Prof. Dr. med. H. Bennhold

Untersuchungen über die Titrationsacidität des Urins

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
KLAUS CONRAD
aus Stuttgart

1962

7376

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Direktor: Prof. Dr. med. H. Bennhold

Untersuchungen über die Titrationsacidität des Urins

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

vorgelegt von
KLAUS CONRAD
aus Stuttgart

1962

Dekan: Professor Dr. Karl Brecht
1. Berichterstatter: Dozent Dr. Hans Peter Missmahl
2. Berichterstatter: Professor Dr. Hans Bennhold

Fotodruck Präzis · Tübingen

Meinen Eltern, Lehrern und Freunden gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

Untersuchungen über die Titrationsacidität des Urins 1

Säuren und Basen 2
Dissoziationskonstante 3
Puffer 3
Der Begriff des pK 4
Verfahrenstechnik 13
Durchgeführte Untersuchungen 14
Untersuchungsergebnisse 15
Diskussion der Ergebnisse 20

I. Verfahrenstechnik und Untersuchungsgang 20
II. Voruntersuchungen zur Auswertung der Titrationskurven von Urinen 20
III. Deutung der Titrationskurve des Urins 21
IV. Die Beziehung zwischen Ausgangs-pH des Urins und der molaren Konzentration des Ammonium 23
V. Das Verhältnis der sog. Titrationsacidität zu den titrierbaren Puffersubstanzen abzüglich des Ammoniums 26
VI. Zusammenfassung 28

Literaturverzeichnis

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE TITRATIONSACIDITÄT DES URINS

Von den Flüssigkeiten des menschlichen Körpers ist dem Blut seit der Kenntnis seiner vielfältigen Funktionen die größte Aufmerksamkeit und das größte wissenschaftliche Interesse geschenkt worden. In neuerer Zeit konzentrierte sich das Interesse auf das Serum und seine physiologische Zusammensetzung und deren Änderung in pathologischen Fällen. Vor allem waren es neben den Eiweißkörpern die Elektrolyte, die größere Beachtung fanden. Die verschiedensten Vorgänge, die im menschlichen Organismus ablaufen, resultieren aus Ionenverschiebungen in den Flüssigkeitsräumen, und zwar in großen wie dem Intravasalraum, wie in den kleinsten, den Intrazellularräumen. Vorwiegend handelt es sich dabei um die Ionen der Elemente Natrium, Kalium und Chlor. Damit eng zusammenhängend und von nicht geringerer Bedeutung ist die Wasserstoffionenkonzentration. Die Aufgaben und Leistungen des Blutes sind in ihren optimalen Wirkungen an ein bestimmtes Milieu gebunden, das von der Wasserstoffionenkonzentration bestimmt wird (Bernard: "milieu interne"). Da das Blut im Rahmen seiner Transportfunktion auch vorwiegend saure Abfallprodukte aus dem Stoffwechsel aufnimmt und später wieder abgibt, ist offensichtlich, daß es ganz erheblichen Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration ausgesetzt ist, die mit dem reibungslosen Ablauf aller Vorgänge im Organismus und mit dem Leben überhaupt nicht vereinbar sind.

Diese Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration im Blut, die man auf Grund der Stoffwechselvorgänge im Organismus erwarten müßte, treten in Wirklichkeit überhaupt nicht oder nur ganz geringgradig ein. Daß dies der Fall ist, beruht auf einer Leistung des Blutes und seiner Bestandteile. Diese wechselnde Konzentration der Wasserstoffionen, die eine ganz empfindliche Störung des "milieu interne" zur Folge hätte, wird von bestimmten Stoffen und Stoffgruppen im Blut abgefangen, und zwar wiederum in Form von Ionenverschiebungen. Da diese Regulationsmechanismen nicht unbegrenzt belastbar sind, die Stoffwechselprodukte aber laufend ins Blut abgegeben werden, muß ein Ort vorhanden sein, wo das Blut diese Stoffe loswerden kann. Dieser Ort ist die Niere, die ihrerseits die Abfallprodukte in konzentrierter Form als Urin ausscheidet.

So einfach zwar hier in wenigen Worten der ganze Ablauf der Vorgänge geschildert ist, so vielfältig sind die Faktoren und Mechanismen, welche die Niere befähigen, diese Abfallstoffe im Urin zu konzentrieren. Auf diese Mechanismen wird an späterer Stelle noch ausführlich eingegangen werden. Zum Verständnis der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen des Urins sollen zunächst einige der hierzu gehörenden grundlegenden Begriffe erläutert werden.

Säuren und Basen

Nach der bisherigen Auffassung wurde eine Säure als ein Stoff definiert, der in wässriger Lösung ein H^+-Ion abgibt, eine Base als ein Stoff, der in wässriger Lösung ein OH^--Ion abgibt. BRÖNSTED (5) hat den Begriff der Base neu gefaßt. Nach seiner Definition ist eine Säure nach wie vor ein Stoff, der ein H^+-Ion abspaltet. Eine Base jedoch definiert er als einen Stoff, der ein H^+-Ion anlagert.

Allgemein dargestellt:

$$S \rightleftharpoons B + H^+$$

Nach BRÖNSTED sind Stoffe wie KOH und NaOH ebenfalls Basen. Sie liefern in wässriger Lösung OH^--Ionen. Diese verbinden sich mit einem H^+-Ion zu H_2O. Somit lagern sie ein H^+-Ion an und sind deshalb nach der neuen Definition Basen.

Amphotere sind nach BRÖNSTED Verbindungen, die H^+-Ionen sowohl abgeben wi aufnehmen können. Demzufolge ist H_2PO_4 als ein Amphoter anzusehen. In basischen Lösungen gibt es ein H^+-Ion ab, und in saurem Milieu nimmt es ein H^+-Io auf.

Durch die Definition nach BRÖNSTED wird z.B. die Auffassung der Hydrolyse ver einfacht. So wurde bisher die saure Wirkung des NH_4^+ in wässriger Lösung durch die hydrolytische Zersetzung erklärt:

$$NH_4^+ + H_2O \longrightarrow NH_4OH + H^+$$

Nach der BRÖNSTED'schen Ansicht entsteht die Acidität des NH_4+ durch einfache Säuredissoziation:

$$NH_4^+ \longrightarrow NH_3 + H^+$$

Prinzipiell hat die elektrische Natur des Säuren- oder Basenmoleküls in dieser Hinsicht keine Bedeutung, da nach der allgemeinen Definition des Säure- und Basenbegriffes auch Ionen als Säuren und Basen auftreten müssen. Demzufolge reagiert Ammoniumchlorid sauer, weil das Ion NH_4^+ eine Säure ist.

Dissoziationskonstante

Säuren, Basen und Salze dissoziieren in wässrigen Lösungen mehr oder weniger stark in ihre Kationen und Anionen. Dabei stellt sich jeweils ein konstantes Verhältnis von undissoziierter zu dissoziierter Substanz ein. Dieses Verhalten läßt sich in einer einfachen mathematischen Gleichung darstellen.

Die Dissoziationskonstante der Säure stellt sich wie folgt dar:

$$\frac{a_{B}^{-} \cdot a_{H}^{+}}{a_{S}} = K_{S}$$

Hier bedeutet a die Aktivität. In der üblichen chemischen Schreibweise steht anstelle von a = Aktivität das Symbol c = Konzentration. Dies gilt aber nur für verdünnte Lösungen. Der genaue Zusammenhang zwischen a und c ist

$$a = c \cdot f,$$

wobei f den Aktivitätskoeffizienten darstellt. In stark verdünnten Lösungen wird der Koeffizient f = 1, und damit a = c.

Puffer

Puffer sind Lösungen, welche die Eigenschaft haben, innerhalb gewisser Grenzen den pH-Wert trotz Zugabe von Säuren, Basen oder Verdünnungen konstant zu halten. Es sind Lösungen einer schwachen Säure mit einem ihrer Salze.

(1) $$\frac{(H^{+}) \cdot (A^{-})}{(HA)} = K_{Säure}$$

(2) $$(H^{+}) = \frac{(HA)}{(A^{-})} \cdot K_{Säure}$$

Gibt man hierzu das Salz MA, das als vollständig dissoziiert zu betrachten ist, dann ist

(3) $$(A^{-}) = c_{Salz}$$

(3) in (2)

(4) $$(H^{+}) = \frac{(HA)}{c_{Salz}} \cdot K_{Säure}$$

Die Konzentration der undissoziierten Säure ist praktisch gleich der Konzentration

der gesamten Säure:

(5) $$c_{(HA)} = K_{Säure}$$

Folglich (in Verbindung (in Verbindung mit dem Begriff des pH nach SÖRENSE

(6) $$\log(H^+) = \log \frac{c_{Säure}}{c_{Salz}} + \log K_{Säure}$$

oder

(7) $$pH = -\log \frac{c_{Säure}}{c_{Salz}} - \log K_{Säure}$$

Da aber $- \log K_{Säure}$ als p_K bezeichnet wird, folgt

(8) $$pH = pK - \log \frac{c_{Säure}}{c_{Salz}}$$

es ist jedoch

(9) $$- \log \frac{c_{Säure}}{c_{Salz}} = + \log \frac{c_{Salz}}{c_{Säure}}$$

(9) in (8)

(10) $$pH = pK + \log \frac{c_{Salz}}{c_{Säure}}$$

Aus Gleichung (10) folgt, daß der pH eines Puffersystems lediglich von dem Verhältnis der Konzentration der schwachen Säure zu der Konzentration ihr Salzes bestimmt wird. Der pH hängt also nicht von der individuellen Konzentration der Säure oder des Salzes ab.

Der Begriff des pK

Der pK-Wert eines Puffers ist definiert als der pH, bei dem das Verhältnis Säure zu Base wie 1 : 1 ist. Das bedeutet, daß an dieser Stelle, beim pK, die maximale Pufferung herrscht.

1 Liter n-Essigsäure und 1 Liter $3,4 \cdot 10^{-3}$ n-Salzsäure haben den gleichen pH, ihre potentielle Acidität jedoch ist verschieden. Nach Zugabe von 1 ml 3,4 n-Natronlauge ist die Salzsäurelösung neutralisiert, die Essigsäurelösung ist saue geblieben. Die Salzsäure ist gegenüber dem Laugenzusatz nachgiebiger.

Versetzt man eine sauer reagierende Lösung mit der unendlich kleinen Menge Lauge dL, wodurch der pH die unendlich kleine Zunahme dpH erfährt, so kann

man die Größe $\frac{dL}{dpH}$ als Maß für die Pufferung der Lösung angeben (MICHAELIS (14)).

Die Puffergleichung lautet:

(10) $$pH = pK + \log \frac{c_{Salz}}{c_{Säure}}$$

Bezeichnet man die Gesamtsäuremenge der Lösung mit S, die zugesetzte Laugenmenge mit L, so ist $S - L = c_{Säure}$, d.h. die Konzentration der freien Säure. Die zugesetzte Laugenmenge muß gleich der Konzentration des Salzes sein, also $L = c_{Salz}$.

Daraus folgt nun:

(11) $$pH = pK + \log \frac{L}{S-L}$$

Nach Differenzierung:

(12) $$p = \frac{dL}{dpH} = \frac{L}{S} \cdot \frac{(S-L)}{\log e}$$

Nimmt man das Produkt von p und log e als definitives Maß für die Pufferung P, dann wird

(13) $$P = p \cdot \log e = \frac{L\,(S-L)}{S}$$

P_{max} (Maximum der Pufferung) wird bestimmt, indem man den Quotient $\frac{dP}{dL} = 0$ setzt.

Dann ergibt sich:

(14) $$\frac{dP}{dL} = \frac{S - 2L}{S} = 0$$

und damit

(15) $$S - L = L$$

Das Maximum der Pufferung liegt demnach bei einem Gemisch von gleichen Mengen Säure und Salz. Die Nachgiebigkeit und die Pufferung eines Säure - Salz - Gemisches sind demnach von der Natur der Säure unabhängig. So haben z.B. Essigsäure und die bedeutend schwächere Borsäure im Gemisch mit ihren Natriumsalzen die gleiche Pufferwirkung. Das Maximum dieser Pufferwirkung liegt aber bei einem anderen pH, und zwar beim pH = pK, was aus der Puffergleichung unmittelbar hervorgeht ($c_{Salz} = c_{Säure}$). Denn dann wird in diesem Falle pH = pK + log 1, und da der log von 1 gleich 0 ist, ergibt sich die Gleichung pH = pK.

Wenn in Pufferlösungen viel Neutralsalze enthalten sind, muß nach den neue Ergebnissen der Ionen-Theorie die Konzentration der Anionen der Puffersäure durch deren Aktivität ersetzt werden (vgl. hierzu BRÖNSTED (5)).

Es ist dann $(H^+) = \frac{c_{Säure}}{f \cdot c_{Salz}} \cdot K_{Säure}$,

wobei f den Aktivitätskoeffizienten darstellt.

Aus der Puffergleichung läßt sich dann ersehen, daß durch die pH-Bestimmun der Wert des pK festgestellt werden kann, wenn $c_{Salz} = c_{Säure}$ ist.

Der Zusatz von Neutralsalzen ergibt nun tatsächlich einen anderen Wert für p was bedeutet, daß durch die Anwesenheit von Neutralsalzen die Dissoziation Säure beeinflußt wird.

Als Beispiel sei hier das Acetatpuffergemisch angeführt. (0, 02 n-Essigsäure + 0, 02 n-Natriumacetat).

Lösung	pK
ohne Neutralsalze	4, 665
in 0, 5 n RbCl	4, 587
in 0, 5 n KCl	4, 569
in 0, 5 n KBr	4, 569
in o, 5 n NaCl	4, 482
in 0, 5 n LiCl	4, 452
in 0, 5 n $CaCl_2$	4, 268

(aus BLADERGROEN (2))

Wie aus dieser Tabelle zu ersehen ist, wächst der Einfuß der Alkalikationen in der Folge der HOFMEISTER'schen lyotropen Reihe Rb - K - Na - Li . Das zwe wertige Ca-Ion hat einen größeren Einfluß als die einwertigen Ionen. Demzufo hängt der Aktivitätskoeffizient von der Wertigkeit der Ionen ab, da die interio schen Kräfte bei mehrwertigen Ionen besonders stark sind.

Unterliegt der pK eines Puffers durch Anwesenheit von Neutralsalzen Schwanku gen, die durch den Aktivitätskoeffizienten f berücksichtigt werden, so sprich man vom pK' des Puffers im Gegensatz zum pK eines Puffers in reiner Lösu

Unter einem Puffersystem versteht man also die schwache Säure und ihr Salz, ren Verhältnis zueinander sehr verschieden sein kann, was von der augenblick- lich beanspruchten Pufferwirkung abhängt.

Es gibt nun im Blut verschiedene Puffersysteme. In der Reihenfolge ihrer Kapa tät und damit ihrer physiologischen Bedeutung sind dies

1) das System Kohlensäure - Bicarbonat
2) das System Hämoglobin - Oxyhämoglobin
3) das System der Plasmaproteine
4) das System primäres Phosphat - sekundäres Phosphat.

Hiervon sind die beiden erstgenannten die wichtigsten. Das Kohlensäuresystem vermag starke Säuren zu binden, wodurch Kohlensäure frei wird, welche dann wiederum durch das Hämoglobinsystem weitergepuffert wird. Auf die Bedeutung des Puffervermögens des Blutes wurde schon eingangs hingewiesen.

Jedes dieser Puffersysteme hat einen ganz bestimmten Wirkungsbereich, innerhalb dessen Grenzen der pK, die Stelle maximaler Pufferwirkung liegt. So wirkt das Kohlensäure-Bicarbonat-System im Bereich von pH 4,5 bis pH 7,8. Sein pK liegt bei pH 6,1. Das Hämoglobin wirkt deshalb als Puffer, weil es als Protein eine größere Anzahl von Gruppen besitzt, die H^+ - Ionen abgeben und aufnehmen können. In den physiologischen pH-Bereichen wirkt vor allem seine Imidazolgruppe als Puffer. Die Dissoziation dieser Imidazolgruppe wird von der Bindung des Sauerstoffs an das benachbarte Eisenatom des Hämoglobinmoleküls beeinflußt (Näheres bei Davenport (6)). Die Plasmaproteine besitzen eine größere Zahl von Gruppen, die bei bestimmten pH-Werten H^+ - Ionen abgeben und aufnehmen können: COOH-, NH_2-, Imidazol- und Phenolgruppen. Jede dieser Gruppen wirkt nur in einem beschränkten pH-Bereich, der in der Umgebung ihres pK-Wertes liegt. Da die pK-Werte über die ganze pH-Skala verteilt sind, überschneiden sich diese Bereiche. Quantitativ spielen die Eiweißkörper ihre wesentliche Rolle als Puffersysteme in den Zellen. An den Pufferungsvorgängen im Blut sind sie dagegen nur wenig beteiligt. Das Phosphat liegt in der intrazellulären Flüssigkeit in hoher Konzentration vor. Es ist neben den Eiweißkörpern das wesentliche intrazelluläre Puffersystem, während es in der extrazellulären Flüssigkeit (ausgen. dem Urin) nur eine unwesentliche Bedeutung besitzt. Bei den im Organismus vorkommenden pH-Werten ist die saure Form von Phosphat nicht H_3PO_4, sondern $H_2PO_4^-$ (primäres, monobasisches Phosphat) mit einem Pufferungsbereich von pH 5,0 bis pH 8,5. Der pK des primären Phosphats liegt bei pH 6,8 und ist damit nur 0,6 pH vom pH-Wert des Blutes entfernt (18). Daraus folgt, daß das Phosphat, rein chemisch betrachtet, unter den Bedingungen des Organismus gute Puffereigenschaften besitzen muß. Doch ist seine Konzentration in der extrazellulären Flüssigkeit mit 2 mval/L zu gering, um eine wesentliche Bedeutung für die Pufferungsvorgänge im extrazellulären Raum zu besitzen. Dies gilt jedoch nicht für den Urin, auf dessen Phosphatgehalt und seine Bedeutung als Puffer später ausführlich eingegangen wird.

Das Gleichgewicht zwischen Säuren und Basen im Blut ist normalerweise so eingestellt, daß ein pH - Wert des arteriellen Blutes von 7,41 resultiert. Die normale

Schwankungsbreite ist dabei mit dem Bereich von pH 7, 38 bis pH 7, 44 sehr eng begrenzt. Daraus und aus dem obengenannten geht hervor, daß für die Pufferungsfähigkeit der intravasalen Flüssigkeit, nämlich des Blutes, praktisch nur zwei Puffersysteme verantwortlich sind: das System Kohlensäure - Bicarbonat, und das System des Hämoglobins.

Wie das Blut, verfügt auch der Urin über Puffersysteme, die es der Niere erlaube große Mengen an Säure auszuscheiden. Das bedeutendste System im Urin ist das Phosphatsystem, welches aus primärem und sekundärem Phosphat besteht. Hier im Urin liegt das Phosphat in viel höherer Konzentration vor als im Blut. Als zweiter wesentlicher Träger der H^+ -Ionen-Ausscheidung ist hier das NH_3 zu nennen, das in der Niere selbst gebildet wird. Weiter kommen als Stoffe für den Protonentransport noch die Kohlensäure und die Harnsäure in Frage. Dies geht au der Abbildung 1 hervor, die einige wichtige im Blut und im Harn vorkommende Säuren mit ihrem pK - Wert enthält. Die Kohlensäure wird aber unter normalen Umständen, bei saurem Urin also, fast völlig rückresorbiert und scheidet deshalb aus.

Die Harnsäure wäre bezüglich ihres pK-Wertes durchaus geeignet, sie wird aber in zu geringer Konzentration ausgeschieden. So bleibt nur das primäre Phosphat als wesentlicher Träger der Ausscheidung von titrierbarer Säure übrig.

Die ziemlich starken Säuren Milchsäure, Essigsäure, β-Oxybuttersäure usw. kommen deshalb nicht in Frage, weil bei ihrem niedrigen pK schon eine geringe Menge ausgeschiedener H^+-Ionen den Urin-pH bis zum Grenzwert von pH 4, 5 erniedrigt. Da ein weiteres Absinken des Urin-pH nicht möglich ist, kann mit diesen Säuren nur eine ganz beschränkte Protonenausscheidung in Form von titrierbarer Säure stattfinden. (Pitts et al. berichten von einem Urin-pH von 4, 44 (!), den sie bei einer durch Ammoniumchlorid hervorgerufenen Acidose eines gesundenen Erwachsenen beobachteten (19).) Schiess et al. (29) haben auch in diesem Zusammenhang das Kreatinin (pK 4, 97) und die PAH (pK 3, 83) untersucht und erwähnt. Doch liegt auch deren pK-Wert so niedrig, daß sie keine große Bedeutung für die Säureausscheidung besitzen. Es ist nun zu untersuchen, wie diese Puffersäuren in den Urin gelangen und wie sie dort teilweise in so hoher Konzentration vorliegen können.

Der pH - Wert des Glomerulumfitrats stimmt mit dem des Blutes überein; er beträgt normalerweise etwa 7, 4. Während der Passage des Primärharns durch die Tubuli der Niere tritt eine Säuerung ein, die MONTGOMERY und PIERCE auf Grund ihrer Untersuchungen an der Amphibienniere auf das distale Tubulussegment lokalisierten (15). Diese Säuerung könnte grundsätzlich dadurch entstehen, daß aus dem Primärharn Basen entfernt oder Säuren hineingegeben wer-

den. Es sind bis heute drei Theorien aufgestellt worden, welche die Urinsäuerung erklären sollen:

1.) die Phosphat-Rückresorptions-Theorie
2.) die Kohlensäure-Filtrations-Theorie
3.) die tubuläre Ionen-Austausch-Theorie.

Nach PITTS und ALEXANDER (20) ist dabei die Hauptreaktion folgende:

$$Na_2HPO_4 + H_2CO_3 \longrightarrow \underset{\text{(ausgesch.)}}{NaH_2PO_4} + \underset{\text{(rückresorb.)}}{NaHCO_3}$$

ad 1.):
Das Glomerulumfiltrat enthält Na_2HPO_4 und NaH_2PO_4 im Verhältnis 4 : 1. Das NaH_2PO_4 wird ausgeschieden, während das Na_2HPO_4 in den Nierentubuli rückresorbiert wird und in das postglomeruläre Blut zurückkehrt. Es reagiert dort teilweise mit der freien Kohlensäure des Blutes, um das normale Verhältnis des primären zum sekundären Phosphats wieder herzustellen (17).

ad 2.):
Außer Na_2HPO_4 und NaH_2PO_4 enthält das Glomerulumfiltrat $NaHCO_3$ und H_2CO_3 im Verhältnis von 20 : 1. Nach dieser Theorie sind die Tubuluszellen impermeabel für H_2CO_3, während $Na^+HCO_3^-$ aktiv rückresorbiert wird. Das Schwergewicht der Reaktion zwischen sekundärem Phosphat und Kohlensäure, die im Lumen der Nierentubuli abläuft, wird durch die Rückresorption des $Na^+HCO_3^-$ nach der rechten Seite verlagert, und das primäre Phosphat, das dabei entsteht, wird im Urin ausgeschieden (31).

ad 3.):
Nach dieser Theorie sind die wichtigsten Bestandteile des Glomerulumfiltrates primäres und sekundäres Phosphat. Kohlensäure und Bicarbonat werden großenteils rückresorbiert und brauchen deshalb nicht beachtet zu werden. Während der Passage des Filtrats durch die Tubuli werden H^+-Ionen, die aus den Tubuluszellen abgegeben werden, im Lumen der Tubuli gegen Na^+-Ionen ausgetauscht und wandeln das sekundäre Phosphat in das primäre Phosphat um. Die Quelle der H^+-Ionen ist die Kohlensäure H_2CO_3, die innerhalb der Tubuluszellen entsteht oder von ihnen aus dem CO_2 des postglomerulären Blutes abgeleitet wird (33).

Zur Veranschaulichung der drei Theorien folgen die entsprechenden schematischen Darstellungen (Abb. 2).

Jede dieser drei Theorien erklärt gleichermaßen die titrierbare Acidität und den pH des Normalurins. Jedoch hat jeder dieser theoretischen Mechanismen in sich eine spezifische Grenze seiner Leistungsfähigkeit, die Ausscheidung von Säure zu bewir-

ken. Nach den beiden erstgenannten Theorien wird die ganze Säuremenge, die im Urin erscheint, anfänglich durch die Glomerula filtriert. Einmal war es das NaH_2PO_4, das die gefilterte Säure darstellte, zum anderen war es H_2CO_3. Somit sind diese beiden Mechanismen in ihrer Wirksamkeit begrenzt von derjenigen Säuremenge, die im Primärharn vorhanden ist, während der dritte Mechanismus, der Ionen-Austausch, von derjenigen Säuremenge begrenzt ist, welche die Nierentubuli dem Glomerulumfiltrat hinzufügen können.

Die Autoren (20) haben bei ihren Experimenten mit Hunden, denen sie unter laufender intravenöser Gabe von Puffersubstanzen wiederholt Salzsäure zugeführt haben, gefunden, daß die Titrationsacidität unter diesen Bedingungen so groß ist, daß sie nur durch einen Mechanismus erklärt werden kann, der den tubulären Säuretransport enthält. Biologisch gesehen erscheint ihnen der vernünftigste Mechanismus dieses Typs derjenige zu sein, welcher den Ionenaustausch von H^+ gegen Na^+ durch das Tubulusepithel hindurch bewirkt. Das Na^+-Ion wird in das peritubuläre Blut als Natriumbicarbonat absorbiert.

Auf Grund dieser Ergebnisse wird heute allgemein angenommen, daß die Tubuluszellen der Niere H^+-Ionen im Austausch gegen Natrium in den Primärharn hineingeben (1, 4, 20, 27, 33). Die Quelle der H^+-Ionen ist die Kohlensäure, die in den Tubuluszellen aus CO_2 und H_2O entsteht.

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

Diese Reaktion wird durch das Ferment Carboanhydrase beschleunigt. Durch Zufuhr von H^+-Ionen entsteht aus HCO_3^- die Kohlensäure H_2CO_3. Dabei wird das zur Neutralisation von HCO_3^- dienende Kation in Freiheit gesetzt. Im allgemeinen handelt es sich dabei um das Natrium. Diese gegen H^+-Ionen ausgetauschten Na^+-Ionen treten zusammen mit den nach der Protonenabgabe zur Verfügung stehenden Bicarbonationen als $NaHCO_3$ in das peritubuläre Kapillarblut über. Auf diese Weise wird der Natrium- und der Bicarbonatbestand des Organismus bewahrt. Die im Tubusharn befindliche Kohlensäure zerfällt in H_2O und CO_2. Das CO_2 tritt zum größten Teil in die Tubuluszellen ein. Dort wird es entweder erneut in den Mechanismus der Protonenproduktion eingeschaltet oder es tritt in das peritubuläre Kapillarblut über. Ein kleiner Teil von CO_2 wird mit dem Harn ausgeschieden. Untersuchungen über die Regulation der Bicarbonatausscheidung haben in den letzten Jahren die hierfür maßgebenden Faktoren aufgedeckt (ROBERTS (26)). Demnach hängt die Rückresorption des Bicarbonats ab vom CO_2-Druck im Plasma und vom Kaliumgehalt der Tubuluszellen. Auch die Blockierung der Carboanhydrase kann z.B. zu einer gesteigerten Bicarbonatausscheidung führen. Die ge-

meinsame Ursache dieser Faktoren liegt wahrscheinlich in einer Veränderung des pH-Wertes der Tubuluszellen selbst. Zur Erläuterung dieser Vorgänge dient die Abbildung 3.

Von großer Bedeutung ist auch die H^+-Ionenausscheidung in Form von NH_4^+. In den Tubuluszellen der Niere wird aus den Aminosäuren durch oxydative Desaminierung mit Hilfe von Aminosäure-Oxydase und aus Glutamin durch Hydrolyse mit Hilfe des Ferments Glutaminase NH_3 gebildet. Durch Aufnahme von jeweils einem H^+-Ion entsteht die schwache Säure NH_4^+. Es ist noch ungeklärt, ob die Vereinigung von NH_3 mit H^+ zu NH_4^+ schon in den Tubuluszellen oder erst im Tubulusharn stattfindet. SARTORIUS, ROEMMELT und PITTS (28) sind der Ansicht, daß freier Ammoniak vom Ort seiner Bildung in den Tubuluszellen durch Diffusion zum Ort seines Vorhandenseins in niederer Konzentration im Urin gelangt. Dort liegt er nicht als freier Ammoniak vor, sondern als Ammoniumion.

Im Gegensatz dazu findet RYBERG (27) einen echten Zusammenhang zwischen Ammoniakausscheidung und Natriumausscheidung in der Acidose und folgert, daß NH_4^+, wie H^+, im Austausch für Na^+ ausgeschieden wird. PITTS und Mitarbeiter (28) nehmen an, daß die Ursache für die gesteigerte Ammoniakausscheidung die gleiche ist, welche die Säuerung des Urins zur Folge hat, nämlich eine Verminderung der von den distalen Tubulusabschnitten ausgeschiedenen Bicarbonatmenge, welche natürlich von einer Verminderung der Plasma-Bicarbonat-Konzentration während einer Acidose herrührt. Wenn der Urin alkalisch ist, wird der Ammoniak nicht im Urin festgehalten, sondern entweicht in das Blut. Diese Interpretation trägt der Tatsache Rechnung, daß der Ammoniakgehalt des venösen Nierenblutes größer ist als der des arteriellen Nierenblutes. SARTORIUS, ROEMMELT und PITTS (21, 28) haben gefunden, daß die Ammoniakausscheidung regelmäßig mit abnehmendem Urin-pH anwächst. Diese Tatsache schreiben sie der Diffusion von freiem Ammoniak von den Tubuluszellen in den Urin zu. Es ist jedoch klar, daß noch andere Faktoren als die Plasma-Bicarbonat-Konzentration und der Urin-pH die endgültige Menge der Ammoniakausscheidung bedingen. Denn diese steigt weiter an, nachdem das Plasmabicarbonat seinen niedrigsten und auf gleichem Spiegel bleibenden Wert in der Acidose erreicht hat, und der acidotische Hund scheidet mehr Ammoniak aus bei gleichem Urin-pH als der normale Hund. Der Grad und die Dauer der Acidose steigert irgendwie die Ammoniakproduktion in den distalen Tubulusabschnitten. Die Natur dieses anpassungsfähigen Faktors ist noch unbekannt.

NASH und BENEDICT (16) kamen im Jahre 1921 zu der Ansicht, daß das Ammonium des Urins in der Niere von Vorstufen gebildet wird, die im Blut vorhanden sein müssen. Sie schlossen auf eine Bildung des Ammoniums in der Niere aus ihrer Beob-

achtung, daß die Ammoniumkonzentration in der Nierenvene größer war als in der Nierenarterie. Dabei erkannten sie richtig, daß die Menge des Ammoniums im arteriellen Blut zu gering ist, um das im Urin gefundene Ammonium zu liefern. In späteren Untersuchungen kamen LOEB, ATCHLEY und BENEDICT (11) sowie RABINOWITCH (23) zu ähnlichen Ergebnissen, doch konnten auch sie keine näheren Angaben über die Art der Vorstufen machen. BLISS (3) und auch KREBS (10) kamen zu der Ansicht, daß ein Aminostickstoff die noch hypothetische Vorstufe des Ammoniums sein müsse, während NASH und BENEDICT (16), KEETON (9), MANN und BOLLMANN (13) den Stickstoff des Harnstoffes als Vorstufe betrachteten.

1943 kamen VAN SLYKE und Mitarbeiter (32) zu der Annahme, daß das Ammonium fermentativ aus Glutaminsäure gebildet wird. Dies konnte auch in späteren Arbeiten gesichert werden. RECTOR und Mitarbeiter (24) konnten zeigen, daß bei der Ratte mit zunehmendem Ammoniumgehalt des Urins durch NH_4Cl-Belastung die Glutaminasekonzentration in den Tubuluszellen ebenfalls zunimmt. RECTOR und ORLOFF (25) haben später festgestellt, daß adaptative Veränderungen der Ammoniumausscheidung nicht begleitet sind von Änderungen irgendeines Enzymes in der Niere, von denen man weiß, daß sie direkt oder indirekt an der Umwandlung von Glutamin in Ammonium beteiligt sind. Im Gegensatz zu den Ergebnissen bei der Ratte läßt NH_4Cl die Fermentaktivität in der menschlichen Niere nicht anwachsen. MADISON und SELDON (12) bestimmten an fünf Personen diejenigen Enzyme, welche in der menschlichen Niere das Ammonium produzieren. Dabei konnten sie zeigen, daß neben der Glutaminase auch Asparaginase, Glycinoxydase, l - und d-Aminosäureoxydase mit großer Wahrscheinlichkeit in die Ammoniumproduktion eingreifen.

Nach PITTS und Mitarbeiter (21, 28) wird in der Tubuluszelle NH_3 produziert, das dann in das Tubuluslumen abgegeben wird und dort entsprechend dem vorliegenden Urin-pH als NH_4^+-Ion vorliegt.

Offen bleibt auch hier die Frage, wie die Ammoniumkonzentration im Urin gesteuert wird. Aus den vorliegenden Untersuchungen lassen sich hierzu ebenfalls keine bindenden Schlüsse ziehen, jedoch zeigt sich, daß beim gesunden Menschen bei einem Urin-pH von 5, 0 bis 7, 0 eine lineare Abhängigkeit zwischen der H^+-Ionenkonzentration und der Menge des im Urin vorhandenen Ammoniums besteht. Da in der Abb. 13 die H^+-Ionenkonzentration im logarithmischen Maß als pH dargestellt ist, verläuft hier die Abhängigkeitskurve ebenfalls logarithmisch.

Verfahrenstechnik

Die Versuche und Untersuchungen wurden mit dem vollautomatischen Titriergerät POTENTIOGRAPH der Firma METROHM AG Herisau durchgeführt. Dieses Titriergerät besteht aus zwei Teilen, einem Titrierstand und einem Schreibgerät. Der POTENTIOGRAPH zeichnet sich aus durch eine einfache Bedienung. Er liefert die fertige Titrationskurve des Urins bis zum extrem alkalischen Bereich. Bei den durchgeführten Untersuchungen wurde als Titrationsmittel $^{n}/10$ Natronlauge verwendet und damit mindestens der pH 11, 0 als Endpunkt erreicht.

Der Titrierstand ist mit einem magnetischen Rührwerk ausgestattet, dessen Geschwindigkeit variiert werden kann. Die Titrationen wurden mit einer 10 ml fassenden Kolbenbürette ausgeführt. Diese Kolbenbürette und ihr Ausstoßmechanismus ist über eine biegsame Welle mit dem Schreibgerät verbunden. Die Titrationsgeschwindigkeit läßt sich am Schreibgerät verändern. Die pH-Messung geschieht mittels einer Glaselektrode, die mit gesättigter KCl-Lösung gefüllt ist. In diese KCl-Lösung taucht eine Platinelektrode ein. Das an der Membran der Elektrode entstehende Potential wird durch einen Röhrenverstärker verstärkt, der sich im Schreibgerät befindet. Die Potentialänderungen werden über einen entsprechenden Mechanismus auf den Schreibstift übertragen, der sich senkrecht zur Transportrichtung des Schreibpapiers bewegt.

Der Meßbereich des Geräts läßt sich variieren. Vor Beginn der Titration wird das Gerät mittels einer Standardpufferlösung auf den pH von 7, 0 geeicht. Dieser Punkt wird dann auf die gewünschte Stelle innerhalb des eingestellten Meßbereichs auf der Skala festgelegt. Daraufhin wird die Kolbenbürette aus einem Vorratsgefäß über einen Schlauch mit dem Titrationsmittel automatisch gefüllt. In einem Becherglas werden die zu titrierenden 10 ml Urin auf das Rührwerk gestellt, der Rührer, ein Stahlstäbchen mit Hartgummiüberzug, wird in den Becher hineingegeben, der geeichte Spezialpapierbogen wird in das Schreibgerät eingespannt, und die Titration kann beginnen. Innerhalb von 2 bis 125 Minuten, was von der Titrationsgeschwindigkeit abhängt, ist die Titration beendet und die Kurve liegt fertig vor. Bei erhöhter Acidität muß die Bürette mehrfach gefüllt werden, bis die Kurve im alkalischen Bereich den pH 11, 0 erreicht hat.

Das Gerät arbeitet sehr genau und ist überaus empfindlich für die kleinsten Potentialschwankungen.

Die Auswertung der Kurven geschieht auf folgende Weise. Auf dem Papierbogen ist entlang der Abszisse in ausreichend unterteilter Einheit der pH-Wert abgetragen. Die Stellen der einzelnen pH-Werte ändern sich natürlich mit der Änderung des Meßbereiches. Auf der Ordinate ist die verbrauchte Menge an Titrationsmittel in ml abgetragen. Es gilt nun, die Wendepunkte der Titrationskurve zu be-

stimmen. Dies ist insofern schwierig, als der Verlauf der Titrationskurve eines Urins sich nicht punktsymmetrisch zu den Wendepunkten erweist. Diese Schwierigkeit wurde überwunden, indem man den Papierbogen neigte und auf der so entstandenen schiefen Ebene die einzelnen Wendepunkte durch die optisch verkürzte Kurve mit hinreichender Genauigkeit bestimmen konnte.

Dies scheint dem Untersucher die größte Fehlerquelle des ganzen Verfahrens zu sein. Doch läßt sich bei einiger Übung und durch wiederholte Kontrollen der Fehler für diese Untersuchungen erträglich gestalten. Weitere Fehlerquellen liegen in der Trägheit der biegsamen Welle, wodurch der Beginn der Titration gegenüber dem Papiertransport ein klein wenig verzögert wird, und in der Pipettierungenauigkeit bei der Abmessung der vorzulegenden Menge von 10 ml Urin.

Durchgeführte Untersuchungen

1) Schwankungsbreite des Gerätes:
Zur Kontrolle der Schwankungsbreite des Gerätes wurden bei insgesamt fünf verschiedenen Urinen sofort hintereinander je zehn Titrationskurven auf dasselbe Blatt geschrieben.

2) Abweichung der Kurven desselben Urins bei Titration in größeren zeitlichen Abständen:
Bei drei Versuchspersonen wurden im Abstand von je einer Stunde insgesamt je sechs Titrationskurven geschrieben.

3) Abhängigkeit der Titrationskurven von der Molarität:
Wie aus der Gleichung (10) zu entnehmen ist, hängt der Verlauf der Titrationskurve von der Molarität eines Puffers und von der Lage des pK ab, wobei unter der Bedingung gleicher Molarität jeweils deckungsgleiche Kurven, jedoch in verschiedener, vom pK abhängiger Lage entstehen. Zur Kontrolle, inwieweit dies bei dem Metrohm-Gerät gewährleistet ist, wurden Kurven von primärem Phosphat in wässriger Lösung verschiedener Konzentration und Ammoniumchlorid entsprechender Konzentrationen geschrieben.

4) Verlauf der Titrationskurve in einem Gemisch von primärem Phosphat und Ammoniumchlorid:
Da im Urin jeweils Puffergemische vorliegen, deren pK so dicht beieinander liegen, daß sich die Wirkungsbereiche der Puffer überschneiden, wurden zur Kontrolle der gegenseitigen Beeinflussung bezüglich des Kurvenverlaufs Untersu-

chungen mit einem Gemisch gleichmolarer und verschieden molarer Lösungen von K-phosphat und Ammoniumchlorid durchgeführt.

5) Titrationskurve nach Zugabe von K-phosphat und Ammoniumchlorid zum Urin:
Die Beeinflussung der Titrationskurve des Urins durch Zugabe von K-phosphat und Ammoniumchlorid wurde mit verschieden molaren Lösungen dieser Substanz geprüft.

6) Titrationskurven von Urinen gesunder Versuchspersonen:
Die Kurven gesunder Personen wurden von vierzig Studenten gewonnen. Bei allen wurde durch Befragen festgestellt, daß sie zur Zeit der Untersuchung sich völlig wohl fühlten und in den letzten sechs Wochen vor der Untersuchung keine Krankheit durchgemacht haben. Insbesondere wurde darauf geachtet, daß von keinem der Untersuchten früher eine Nierenerkrankung durchgemacht wurde. Weiterhin wurde darauf geachtet, daß keine der Versuchspersonen eine Sonderkost zu sich genommen hat. Sämtliche untersuchten Urinportionen wurden in den Vormittagsstunden gewonnen und innerhalb einer Stunde untersucht.

7) Titrationskurven von Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen:

Zur Klärung der Frage, inwiefern der Verlauf der Titrationskurve des Urins durch bestimmte Erkrankungen beeinflußt wird, wurden bei insgesamt 43 Patienten 172 Kurven geschrieben.

Untersuchungsergebnisse:

1) Schwankungsbreite des Gerätes:
Bei den Untersuchungen über die Reproduzierbarkeit der einzelnen Kurven wurden von fünf verschiedenen Urinen mit unterschiedlichem Ausgangs-pH zwischen pH 5, 0 und pH 7, 5 jeweils zehn Kurven desselben Urins sofort hintereinander geschrieben. Dabei zeigten sich zwischen den einzelnen Kurven eines jeden Urins keinerlei Abweichungen. Sowohl der Ausgangs-pH als auch der weitere Verlauf der Titrationskurven wurden deckungsgleich geschrieben.

2) Abweichung der Kurven desselben Urins bei Titration in größeren zeitlichen Abständen:
Wie aus Abb. 4 zu entnehmen ist, tritt hierbei unter Luftabschluß durch Über-

schichten von flüssigem Paraffin bis zu fünf Stunden nach Entleerung der Blase lediglich eine geringfügige Verschiebung der Kurve nach rechts auf, wobei der Ausgangs-pH um etwa 0,4 ins Alkalische verschoben ist. Der unterschiedliche Verbrauch an Titrationsmittel beträgt bei pH 6 0,3 ml, bei pH 7 0,15 ml, bei pH 8 0,15 ml, bei pH 9 0,1 ml, bei pH 10 0,2 ml. Wie der Verlauf der 41 Stunden nach Beginn der Untersuchung geschriebenen Titrationskurve zeigt, kommt es jedoch nach längerem Stehen auch unter Luftabschluß zu einer deutlichen Verschiebung in den alkalischen Bereich.

Wird der Urin, der untersucht werden soll, bei längerem Stehen nicht unter Paraffin abgeschlossen, so tritt schon nach einer Stunde eine Verschiebung der gesamten Titrationskurve in den alkalischen Bereich ein.

3) Abhängigkeit der Titrationskurven von der Molarität:
Die Titrationskurve einer reinen Puffersubstanz setzt sich zusammen aus zwei punktsymmetrischen Kurventeilen. Bei der von dem Metrohm-Gerät gegebenen Schreibung folgt, in Richtung der Schreibung von unten nach oben gesehen, eine Linkskurve der nach rechts verlaufende Kurventeil, sofern mit Lauge titriert wird. Hierbei bedeutet der Anfang der Linkskurve den Beginn der Pufferwirkung einer untersuchten Substanz. Der Umschlag der Linkskurve in die Rechtskurve stellt den pK dar, und das Ende der Rechtskurve zeigt den Punkt an, bei welchem die Pufferwirkung erloschen ist. Da der Verlauf der Pufferkurve lediglich von der molaren Konzentration des betreffenden Puffers abhängig ist, muß die verbrauchte Laugemenge der molaren Konzentration entsprechen. Zur Kontrolle, inwieweit bei dem Metrohm-Gerät diese Forderungen erfüllt werden, wurden von primärem K-phosphat und Ammoniumchlorid in Konzentrationen von $^1/_1$ m in einer geometrischen Reihe mit dem Faktor $^1/_2$ bis zu einer Konzentration von $^1/_{128}$ m die Titrationskurven geschrieben. Wie die Abb. 5 und 6 zeigen, liegen die Meßwerte auf einer Geraden. Dies bedeutet, daß bei den Untersuchungen die molare Konzentration eines Puffers direkt aus den Titrationskurven abgelesen werden kann. Hierzu muß lediglich der Verbrauch des Titrationsmittels vom Anfang der von dem Puffer bedingten Titrationskurve bis zu deren Ende gemessen werden. Da der Wendepunkt, der dem pK entspricht, den Mittelpunkt der gesamten punktsymmetrischen Titrationskurve darstellt, kann ebenso vom Anfang der Titrationskurve bis zum pK, bzw. vom pK bis zum Ende der Titrationskurve abgelesen werden. Die so erhaltenen Werte müssen dann lediglich verdoppelt werden.

4) Verlauf der Titrationskurve eines Gemisches von primärem Phosphat und Ammoniumchlorid:
Die gegenseitige Beeinflussung des Kurvenverlaufs zweier Puffer, deren Wirkungsbereiche sich überschneiden, wurde mit einem Gemisch aus primärem K-phospha

und Ammoniumchlorid geprüft. Diese stellen die beiden wirksamen Puffer des Urins dar. Da sich die Kurvenverläufe bei den Versuchen verschiedener Pufferkonzentrationen zwischen $^1/_1$ m und $^1/_{128}$ m gleichen, wurden lediglich die Kurven von einem $^1/_{32}$ m Phosphatpuffer und einem $^1/_{32}$ m Ammoniumpuffer dargestellt (Abb. 7). Aus dem verwandten Beispiel läßt sich ersehen, daß in der ausgezogenen Kurve, die dem Gemisch entspricht, die dem pK der einzelnen Anteile entsprechenden Wendepunkte und der Endpunkt des in seiner Pufferwirkung mehr im alkalischen Bereich liegenden Ammoniums eindeutig abzulesen sind. Dagegen läßt sich sowohl das Ende der Pufferkurve des Phosphats wie auch der Anfang der Pufferkurve des Ammoniums im Gemisch der beiden nicht mehr eindeutig festlegen. Trotzdem ergibt sich ohne weiteres die Möglichkeit, die molare Konzentration der beiden Puffersubstanzen abzulesen. Aus der Gleichung (10) geht hervor, daß die Pufferkurven punktsymmetrisch sein müssen, wie dies auch die Pufferkurven der unter 3) angegebenen Untersuchungen zeigen. Somit kann also durch eine Verdoppelung des von dem pK des Ammoniums zum Ende der Ammoniumkurve verbrauchten Titrationsmittels der genaue Gesamtverbrauch desselben und damit die Gesamtmenge des für Ammonium benötigten Titrationsmittels bestimmt werden. Hieraus ergibt sich weiterhin die Möglichkeit, die für den Phosphatpuffer verbrauchte Menge an Titrationsmittel zu bestimmen. Der Verbrauch an Titrationsmittel vom pK der Phosphatkurve bis zum Ende der Ammoniumkurve enthält nämlich die bereits bekannte Menge Titrationsmittel für das Ammonium und die Hälfte des für den Phosphatpuffer benötigten Titrationsmittels. Sofern man die bereits bekannte für das Ammonium verbrauchte Menge an Titrationsmittel als a, und die vom pK des Phosphats bis zum Ende der Ammoniumkurve verbrauchten Menge als b bezeichnet, dann ergibt (b - a) · 2 den Verbrauch an Titrationsmittel für die gesamte Pufferkapazität des vorliegenden Phosphats. Werden in dieser Weise die aus diesem Puffergemisch erhaltenen Kurven abgelesen, so erhält man nach diesen Untersuchungen jeweils die vorgelegte molare Konzentration des einzelnen Puffers.

5) Titrationskurve nach Zugabe von K-phosphat und Ammoniumchlorid zum Urin:

Die Frage, inwieweit bei Titrationskurven des Urins die vorliegende molare Konzentration des Phosphats bzw. des Ammoniums festgestellt werden kann, wurde durch Zugabe von Phosphat- bzw. Ammoniumchloridlösungen in verschiedenen molaren Konzentrationen zu einer Urinportion geklärt. Die dabei erhaltenen Werte sind in der Tabelle 2 dargestellt. Es zeigt sich, daß herunter bis zu einer Konzentration von $^1/_{64}$ m mit einer Schwankungsbreite von $\pm$ 10 % die vorgelegten Mengen wiedergefunden wurden. Erst bei hohen Verdünnungen ab einer Konzentration von $^1/_{128}$ trat eine größere Ungenauigkeit auf (Abb. 8).

6) Titrationskurven von Urinen gesunder Erwachsener:
Wie in Abb. 9 und 10 zu sehen ist, haben die Kurven einen unterschiedlichen Verlauf. Zunächst kann man aus dem Startpunkt der Kurven den Ausgangs-pH je des einzelnen Urins ablesen. Dieser Ausgangs-pH entspricht der Acidität des Urins. Hierbei versteht man unter Acidität den durch den pH festgelegten Gehal an freien Protonen im Urin. Die Kurven zeigen von diesem Startpunkt aus gese- hen einen mehrfach gekrümmten Verlauf. Weiterhin zeigen sie eine unterschied liche Beziehung zwischen der zur Titration gebrauchten $^{n}/10$ Natronlauge, wel- che in den Abbildungen der Titrationskurven auf der Ordinate abgetragen ist, ur dem jeweiligen pH.

Zur Klärung der Frage, ob durch den von van Slyke eingeführten Begriff der Titrationsacidität (17), wie er auch von anderen Autoren verwendet wurde (6, 8 18, 20, 28, 30), die Aussagemöglichkeiten einer Titrationskurve des Urins bereits erschöpfend festgelegt sind oder nicht, wurde der Verbrauch an Titrationsmittel jedes einzelnen Urins bis zum pH von 7,4 in Beziehung gesetzt zu dem Verbrauch bis pH 8,0, 9,0, 10,0 und 11,0. Dies ist in Abb. 11 dargestellt. Hier ist auf der Ordinate der Verbrauch an Titrationsmittel bis zum pH von 7,4 abgetragen, auf der Abszisse der Verbrauch bis zu den abgelesenen pH-Werten. Die einzelnen abgelesenen ganzzahligen pH-Werte sind durch verschiedene Zei- chen markiert. Aus der Abbildung läßt sich ersehen, daß zwischen pH 7,4 und pH 8,0 im Verbrauch des Titrationsmittels bis dahin eine feste Korrelation besteht. Bereits bei der Ablesung von pH 9,0 tritt zwischen den einzelnen Punkten eine deutliche Streuung auf, jedoch läßt sich noch ein enger Korrelationsbereich darstellen. Die Ablesung bis pH 10,0 und pH 11,0 zeigt dann, daß zwischen dem Verbrauch an Titrationsmittel bis pH 7,4 und pH 10,0 bzw. pH 11,0 keine feste Beziehung mehr besteht. Es ist somit sinnvoll, die Gesamttitrationskurve zu betrachten und nicht nur den bisher gebrauchten Begriff der Titrationsacidität.

Eine weitere Möglichkeit der Ablesung der Titrationskurven ist durch die Bestimmung der verschiedenen in der Kurve nachweisbaren Wendepunkte gegeben. Aus diesem Grunde wurde in jeder Kurve festgelegt, bei welchem pH die einzelnen Wendepunkte liegen. In Abb. 12 ist die Streuung der einzelnen Wendepunkte im Bezug zum pH dargestellt. Zur weiteren Klärung der Bedeutung des Kurvenverlaufes der angefertigten Titrationskurven wurde, wie bereits vorne angegeben, die molare Konzentration des Ammoniums zum Ausgangs-pH des Urins in Beziehung gesetzt. Die hierfür gefundenen Meßwerte sind in Abb. 13 eingetragen. Auf der Ordinate ist die molare Konzentration des Ammoniums abgetragen, auf der Abszisse der Ausgangs-pH der Kurve. Wie weiter vorne auseinandergesetzt, läßt sich grundsätzlich aus einer Titrationskurve einer Mischung aus Phosphat und Ammonium die einzelne molare Konzentration ablesen.

Da jedoch bei den an gesunden Personen erhaltenen Titrationskurven teilweise die Phosphatkonzentration so gering ist, daß der dem pK entsprechende Wendepunkt nicht mehr sicher ablesbar ist, wurde in der Abb. 14 der Verbrauch an Titrationsmittel bis pH 11,0 abzüglich der für das Ammoniumion verbrauchten Menge $^{n}/_{10}$ Natronlauge in Beziehung gesetzt zum Ausgangs-pH und in der Abb. 15 zum Verbrauch an Titrationsmittel für das Ammonium.

7) Titrationskurven von Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen:

In Abb. 16 bis 22 sind einige Kurven wiedergegeben, die bei verschiedenen Patienten erhalten wurden. Die Abb. 16 zeigt, daß mit dieser Methode bis zu vier verschiedene Puffer erfaßt werden können. Der stark unterschiedliche Verlauf der Titrationskurven läßt sich am besten ersehen, wenn man die Abb. 16 mit der punktierten Kurve in Abb. 18 oder mit der Abb. 17 vergleicht. In allen diesen Kurven, ebenso wie in den übrigen Kurven, die von den Patienten gewonnen wurden, zeigt sich wieder, daß die einzelnen Puffer sich als S-förmiges Kurvenstück darstellen und daß der wechselnde Kurvenverlauf durch die unterschiedliche molare Konzentration der vorhandenen Puffer bedingt ist.

Die Auswertung der Kurven wurde ebenso durchgeführt wie bei den Kurven der von gesunden Versuchspersonen erhaltenen Urine. Wie später in der Diskussion ausgeführt wird, unterscheiden sich die hierbei erhaltenen Diagramme von denen, die bei der Auswertung der Urine gesunder Versuchspersonen gefunden wurden. Dies zeigt sich bereits in Abb. 23, in welcher ebenso wie in Abb. 11 der Verbrauch des Titrationsmittels bis zu ganzzahligen pH-Stufen in Abhängigkeit zum Verbrauch an Titrationsmittel bis zum pH 7,4 abgetragen wurde. Die verschiedenen Wendepunkte der hier erhaltenen Kurven sind in Abb. 12 dargestellt.

Die Beziehung zwischen der molaren Konzentration des ausgeschiedenen Ammoniums und dem Ausgangs-pH wurde für alle hier erhaltenen Kurven in Abb. 24 dargestellt. Ebenso wie bei den Urinen der gesunden Personen wurde auch hier der Verbrauch an Titrationsmittel bis pH 11,0 abzüglich der für das Ammonium verbrauchten Menge an Natronlauge in Beziehung gesetzt zum Ausgangs-pH und zum Verbrauch an Titrationsmittel für das Ammonium (Abb. 25 und 26).

Diskussion der Ergebnisse

I. Verfahrenstechnik und Untersuchungsgang:

Es hat sich bei den Untersuchungen über die Reproduzierbarkeit der Titrationskurven gezeigt, daß das Metrohm-Gerät die Kurven exakt wiedergibt und überaus empfindlich auf die geringsten Potentialänderungen reagiert. Auf Grund weiterer Untersuchungen hat sich ergeben, daß der zu untersuchende Urin unter Luftabschluß keine nennenswerten Veränderungen erfährt, wenn man die Titration in den ersten fünf Stunden nach der Entleerung der Blase durchführt. Selbstverständlich wird man dennoch den Urin möglichst rasch untersuchen, vor allem, wenn bei dem Patienten, von welchem der Urin stammt, eine bakterielle Infektion der ableitenden Harnwege vorliegt oder vermutet wird. Grundsätzlich erlaubt jedoch der Luftabschluß unter flüssigem Paraffin eine spätere Untersuchung.

II. Voruntersuchungen zur Auswertung der Titrationskurven von Urinen:

Weitere Untersuchungen haben ergeben, daß die Titrationskurven von der molaren Konzentration der in Lösung befindlichen Puffersubstanz abhängen. Wie weiter vorne ausgeführt, ist der pK-Wert eines Puffers unveränderlich, solange der Puffer in reiner Substanz vorliegt. Demzufolge muß sich die Abhängigkeit von der molaren Konzentration nur im Verbrauch des Titrationsmittels bemerkbar machen. Dies hat sich bei den durchgeführten Untersuchungen bestätigt. Dabei kann man einwandfrei feststellen, daß der pK unverändert bei einem für den Puffer charakteristischen pH liegt, jedoch bei höherer Konzentration erst nach längerer Titration erreicht wird. Bei den Untersuchungen hat sich eine direkte Proportionalität zwischen molarer Konzentration und Verbrauch an Titrationsmittel herausgestellt. Liegt die Puffersubstanz in einer molaren Konzentration von $^1/_{32}$ vor, so benötigt man zur Titration bis zum pK dieses Puffers 1, 6 ml Titrationsmittel. Da die Titrationskurven punktsymmetrisch liegen, benötigt man bis zur Endtitration, bis zur völligen Auslastung des Puffers doppelt so viel Titrationsmittel wie bis zum pK. Ist die molare Konzentration des Puffers verdoppelt, so verdoppelt sich auch die Menge an Titrationsmittel, die benötigt wird, um den gesamten Puffer auszulasten. Damit ist klar, daß die Meßpunkte einer geometrischen Reihe der molaren Konzentration auf einer Geraden liegen müssen. Dies zeigen die Abb. 5 und 6, wo für Phosphat und für Ammonium die Geraden mit den bei den jeweiligen Konzentrationen erhaltenen Meßpunkten aufgezeichnet sind. Hieraus läßt sich wiederum ersehen, daß das Gerät ohne Schwankungsbreite arbeitet, und daß die Ablesung der Kurven eindeutig möglich ist.

Aus den Untersuchungen eines Gemisches der Puffersubstanzen primäres Phosphat und Ammoniumchlorid ist hervorgegangen, daß auch in diesen Titrationskurven, in welchen sich die Pufferwirkungen überschneiden, die einzelnen Anteile in entsprechender molarer Konzentration bestimmt werden können. Davon ausgehend wurden nun einzelnen Urinportionen Puffersubstanzen bestimmter molarer Konzentrationen zugefügt (Abb. 8). Die Titration und die anschließende Auswertung nach dem beschriebenen Verfahren ließ die zugefügten Puffersubstanzen in der gleichen Konzentration mit einer Fehlerbreite von $\pm$ 10 % wiederfinden. Damit ist die Möglichkeit gegeben, die Ausscheidung von Phosphat und Ammonium durch die Niere mittels einfacher Titration des Urins meßbar zu erfassen.

III. Deutung der Titrationskurve des Urins:

Der Begriff der Titrationsacidität wurde von VAN SLYKE geschaffen. Unter diesem Begriff, den man auch "titrierbare Säure" nannte, verstand man die Acidität des Urins, die man durch Titration bis zum pH des Plasmas, 7,4 gemessen hat (6, 8, 18, 20, 28, 30). Zur Bestimmung der titrierbaren Säure nach der Methode von HENDERSON-PALMER wurde bis zum pH 7,4 titriert (8). Bei dem Verfahren nach FOLIN (7) wurde bis zu einem pH von 8,2 titriert. Beide Methoden dienen zur Bestimmung der titriebaren Säure im Urin und zur Beurteilung des Basenhaushaltes des Organismus.

> Der Ausdruck Basenhaushalt (base economy) wurde von J. L. GAMBLE eingeführt, um die Größe des Bicarbonatverlustes anzuzeigen, von dem der Organismus durch die Ausscheidung überschüssiger Säureradikale von "fixed base" bewahrt wird. Übersteigt die Bicarbonatausscheidung diejenige von Ammoniak + titrierbarer Säure, dann liegt ein Alkaliverlust des Körpers vor und der Basenhaushalt ist negativ.
>
> Basenhaushalt = Ammoniak + titrierbare Säure - Bicarbonat (7).

Demgegenüber trat die Frage auf, ob durch die Wiedergabe des gesamten Kurvenverlaufes einer Titrationskurve eines Urins, wie sie mit einem kontinuierlich schreibenden automatischen Titriergerät möglich ist, neue Gesichtspunkte ergibt. Wie vorne bereits auseinandergesetzt wurde, läßt sich aus diesen Kurven sofort der genaue pH-Wert des Urins ablesen. Dem seitherigen Begriff der Titrationsacidität entspricht der den Kurven ohne weiteres entnehmbare Verbrauch an Titrationsmittel bis zu einem pH von 7,4 bzw., sofern man den Begriff im Sinne von FOLIN (7) gebraucht, bis zum pH von 8,2.

Würden die durch das Titrationsgerät bis zu diesem pH erhaltenen Kurven darüber

hinaus keine weiteren Aussagen erlauben, so müßten bis pH 7,4 alle Kurven mit demselben Ausgangs-pH und der gleichen Titrationsacidität identisch sein. Bereits aus der Tatsache, daß dies nicht der Fall ist, läßt sich ersehen, daß durch die Schreibung der Titrationskurven weitere Aussagen zu treffen sein müssen. In noch stärkerem Maße geht dies aus der Abb. 11 hervor. Würde durch die Messung des verbrauchten Titrationsmittels bis pH 7,4 der Kurvenverlauf auch für die Titration über diesen Punkt hinaus festgelegt sein, so müßten die Punkte für gleiche pH-Werte in dieser Abbildung auf einer Geraden liegen. Annäherungsweise ist diese Forderung erfüllt, sofern nur die Titration bis zum pH 8,0 betrachtet wird. Die starke Streuung der Meßpunkte für pH 9,0, 10,0 und 11,0 zeigt klar, daß der Verlauf der Titrationskurven auch bei demselben Verbrauch an Titrationsmittel nach pH 7,4 unterschiedlich sein kann. Besonders deutlich geht dies daraus hervor, daß sich die Meßpunkte für den Verbrauch an Titrationsmittel bis zum pH 10,0 und 11,0 in einem breiten Bereich überschneiden, der in der Abb. 11 dunkel getönt ist. In erheblich stärkerem Maße ist dies noch aus der Abb. 23 zu ersehen, in welcher die entsprechende Auswertung der Titrationskurven von Urinen von Patienten mit verschiedenen Krankheiten wiedergegeben ist. Diese Streuung der Meßpunkte bei ganzzahligen pH-Werten wird bei dem Kurvenverlauf durch die unterschiedliche molare Konzentration der einzelnen erfassbaren Puffer bedingt.

Aus diesem Grunde wurden die für die Puffer typischen Wendepunkte der Titrationskurven für die einzelnen Urine festgelegt. Ihre Lage ist in Abb. 12 sowohl für die Urine gesunder Personen wie diejenigen Kranker eingetragen. Aus dieser Abbildung ist zu ersehen, daß sich mindestens fünf Wendepunkte nachweisen lassen. Da die Titrationskurve eines Puffers mathematisch festgelegt ist und der pK in reiner Substanz auch bei unterschiedlicher molarer Konzentration eines Puffers immer beim selben pH-Wert liegt, erscheint die Streuung der hier abgelesenen Werte zunächst erstaunlich. Diese wechselnde Lage der einzelnen Wendepunkte wird dadurch bedingt, daß der pK, sofern der Puffer mit anderen Salzen zusammen vorkommt, in seiner Lage wechseln kann. Dies wurde von BLADER-GROEN (2) genauer untersucht. Er fand dabei für den pK der Zitronensäure die auf Seite 6 angeführten Abweichungen. Ebenso schwanken in dem aus den verschiedensten Substanzen zusammengesetzten Urin die pK-Werte der vorhandenen Puffer, d.h. in strengem Sinne handelt es sich hierbei um die pK' -Werte der einzelnen Puffer. Aus der Abb. 12 ist ersichtlich, daß der bei pH 9,3 liegende pK' des Ammoniums in statistischer Verteilung klar herauskommt. Somit muß es sich bei der Anhäufung von Ablesewerten zwischen pH 7,4 und pH 8,4 und auch zwischen pH 10,2 und pH 11,0 um den Anfang bzw. das Ende der durch Ammonium gegebenen Titrationskurve handeln. Der dem Anfang der für Ammonium geltenden Titrationskurve entsprechende Wendepunkt zeigt eine relativ große Streuung. Die kommt dadurch zustande, daß dieser Kurventeil durch das Ende der für Phosphat

geltenden Titrationskurve überlagert wird. Die Endpunkte der Titrationskurven für Ammonium liegen dagegen näher beieinander. In engerem Bereich liegen weiterhin die dem pK' des Phosphats entsprechenden Wendepunkte bei einem pH von 6, 6, wogegen die Anfangspunkte der Phosphattitrationskurve wiederum nicht so dicht beieinander liegen. Auch hier liegt eine Überlagerung durch andere Puffersubstanzen vor, deren pK' zum Teil in der Abbildung eingezeichnet ist.

Hieraus ergibt sich, daß genaue Ablesungen der einzelnen Puffer am besten für den pK' des Phosphats und des Ammoniums und den Endpunkt des Ammoniums vorgenommen werden können. Daß mit diesen Meßpunkten die molare Konzentration des im Urin vorhandenen Ammonium- und Phosphatpuffers bestimmt werden kann, wurde bereits auf Seite 17 ausgeführt. Dort finden sich auch Angaben über die Fehlerbreite der Bestimmung der molaren Konzentrationen des Ammonium- und Phosphatpuffers.

Es muß hier darauf hingewiesen werden, daß bei der beschriebenen Bestimmung der molaren Konzentration die echten Werte für Ammonium und Phosphat direkt gewonnen werden. In einer 1 m Lösung von Ammoniumchlorid oder von primärem Kaliumphosphat, dessen Konzentration in diesem Falle 1000 mval/L entspricht, liegen jeweils das Anion und das Kation in einer Konzentration von 1000 mval/L vor. Das bedeutet, daß man die für die Titration verbrauchte Menge an $^{n}/10$ NaOH in mval/L gleich den mval/L des Puffers setzen kann.

IV. Die Beziehung zwischen Ausgangs-pH des Urins und der molaren Konzentration des Ammoniums:

SARTORIUS (28) führte auf Anregungen von PITTS Untersuchungen im Zusammenhang zwischen Ammoniumproduktion und H^+-Ionen-Ausscheidung durch. Im einzelnen untersuchte er dabei die Ammoniumausscheidung beim Hund, der experimentell in einer Acidose gehalten wurde. Zur Kontrolle bestimmte er die Ammoniumausscheidung eines Hundes mit physiologisch normalem Blut-pH. Dabei hat er gefunden, daß die Ammoniumausscheidung regelmäßig mit abnehmendem Urin-pH anwächst.

Wie auf Seite 16 unter 3) ausgeführt, kann man auf Grund der eigenen Untersuchungen sehr einfach die molare Konzentration des Ammoniums aus der Titrationskurve bestimmen. Die Beziehungen zwischen dem Ausgangs-pH des Urins und der molaren Konzentration des Ammoniums wurden bei den vierzig hier untersuchten gesunden Personen dargestellt. Hieraus kann man ersehen, daß bei 80 % der untersuchten Personen die Korrelationspunkte in einem klar abgrenzbaren, in der Abb. 13 dunkel getönten Bereich liegen. Aus diesem Diagramm läßt sich ablesen, daß mit fallendem pH die Ammoniumproduktion zunimmt. Auffallenderweise hatten fünf

der Versuchspersonen ein Urin-pH unter 5, 0 und gleichzeitig einen gegenüber de anderen stark verminderten Ammoniumgehalt des Urins. Wodurch dieses Verhalten bedingt wurde, konnte bei den bis jetzt vorliegenden Untersuchungen nicht g klärt werden. Ebenso lassen sich keine sicheren Aussagen darüber treffen, warum bei zwei Versuchspersonen ein zum Verhältnis des Ausgangs-pH des Urins erhöhte Ammoniumgehalt vorgelegen hat. Der gekrümmte Verlauf des Grenzbereichs, in welchem sich die meisten der Korrelationspunkte befinden, ist dadurch bedingt, daß der pH ein logarithmisches Maß ist. Wird die Molarität bzw. der Verbrauch an Titrationsmittel ebenfalls im logarithmischen Maßstab aufgetragen, so ergibt sich anstelle der Kurve eine Gerade. Aus der von SARTORIUS, ROEMMELT und PITTS (28) veröffentlichten Kurve über den Zusammenhang zwischen Ammonium gehalt und pH des Urins geht hervor, daß nach ihrer Interpretation die Ammoniu produktion in der Niere sich logarithmisch zum Ausgangs-pH des Urins verhält. Sie nehmen nämlich an, daß bei der von ihnen gewählten Darstellung, in welche sie die Ammoniumausscheidung in metrischem Maß auf der Ordinate eingetragen haben und den pH ebenfalls in metrischem Maß auf der Abszisse, ein gradliniges Ansteigen der Ammoniumproduktion bei abnehmendem Urin-pH abgelesen werd kann. Betrachtet man die Kurve genauer, so läßt sich klar ersehen, daß ebenso wie bei den in der vorliegenden Arbeit erhaltenen Werten an gesunden Personen der Normbereich in einer Kurve verläuft. Die in Abb. 24 eingetragenen Korrelationspunkte zwischen der molaren Konzentration des im Urin enthaltenen Ammo ums und dem Ausgangs-pH bei Personen mit verschiedenen Krankheitsbildern lassen erkennen, daß hier die überwiegende Mehrzahl der Punkte außerhalb des Nor bereiches liegen. Auf der einen Seite zeigen viele der untersuchten Urine im Ver hältnis zum pH einen zu geringen Gehalt an Ammonium, auf der anderen Seite haben mehrere einen deutlich erhöhten Ammoniumgehalt. Dieses Abweichen von Verhalten der Titrationskurven von Gesunden läßt sich auch in den Abb. 11 und 23 erkennen.

Zur weiteren Klärung, ob bei bestimmten Krankheitsbildern die Ammoniumproduktion in typischer Weise von der Norm abweicht, wurden die Meßwerte von Pa tienten mit jeweils vergleichbaren Krankheiten gesondert dargestellt.

Es scheint dabei zweckvoll, folgende Einteilung zu treffen :

1) Urine von Patienten mit geringgradiger Niereninsuffizienz.
   Als Kriterium für die Schwere der Insuffizienz wurde neben dem klinischen Bild und dem Phenolrottest das Verhalten von Harnstoff und Elektrolyten herangezogen.

2) Urine von Patienten mit manifester Nierensuffizienz, bei denen der Phenolrottest deutlich eingeschränkt war, und harnpflichtige Substanzen eindeutig retiniert wurden.

3) Urine von Patienten mit akuten tubulären Niereninsuffizienzen.

4) Urine von Patienten mit respiratorischer Acidose bei cor pulmonale.
Das Maß der respiratorischen Acidose wurde durch Messungen des Standardbicarbonats und des aktuellen pH festgestellt.

5) Urine von Patienten mit klinisch manifesten Lebercirrhosen bzw. einer schweren Leberzelldystrophie.

Die Meßpunkte der Urine von den unter Gruppe 1) zusammengefaßten Patienten sind in Abb. 27 wiedergegeben. Daraus läßt sich ersehen, daß bereits eine beginnende Niereninsuffizienz mit einer Einschränkung der Ammoniumproduktion einhergeht. Noch deutlicher geht diese Verminderung der Ammoniumproduktion in der Niere bei Ausfall der Nierenfunktion aus der Abb. 28 hervor, in welcher die Meßwerte der unter Gruppe 2) zusammengefaßten Patienten eingetragen sind. Auffallend ist hier, daß bei einem Teil der Urine ein sehr hohes Urin-pH mit teilweise extrem hohen Ammoniumwerten nachzuweisen ist. Wie bereits vorne angegeben, sind alle untersuchten Urine entweder sofort nach der Entleerung der Blase titriert oder nur wenige Stunden unter Luftabschluß durch Paraffin bis zur Titration aufbewahrt worden. Die Vergleichskurven in Abb. 4 zeigen, daß hierbei keine wesentliche Änderung der Titrationskurven auftritt. Bei allen diesen Patienten mit auffallend hohen Ammoniumwerten handelt es sich um Infektionen der ableitenden Harnwege. Dies zeigt, daß bereits innerhalb der Blase in diesen Fällen durch bakterielle Zersetzung des Urins Ammonium entsteht.

Bei den akuten tubulären Niereninsuffizienzen in der Gruppe 3) (Abb. 29) liegen die Meßpunkte ebenso wie bei der chronischen Niereninsuffizienz unterhalb des Normbereiches. Auch hier können einige Punkte durch in der Blase stattgefundene bakterielle Zersetzung des Urins im stark alkalischen Bereich mit hoher Ammoniumproduktion liegen. Bessert sich die Urininfektion, so verschwindet der hohe Ammoniumgehalt. In der Abb. 30 sind die Meßpunkte von einer Patientin eingetragen. Hierbei handelt es sich um einen Fall einer akuten tubulären Niereninsuffizienz mit einer gleichzeitig vorhandenen Infektion der ableitenden Harnwege. Die Untersuchungen und Messungen wurden über einen Zeitraum von mehreren Tagen durchgeführt. Mit dem Verschwinden der Infektion zeigt sich die stark verringerte Ammoniumproduktion der Niere.

Eine Beurteilung des Verhältnisses zwischen Ammoniumproduktion und Urin-pH bei Patienten mit respiratorischer Insuffizienz der Gruppe 4) ist wegen der geringen Anzahl der Fälle nicht möglich. In Abb. 21 ist der Beginn der Titrationskurven an drei verschiedenen Tagen bei einem Patienten mit schwerer respiratorischer Alkalämie (Blut-pH 7,58) dargestellt. Hieraus kann man sehen, daß in diesem Falle eine stark erhöhte Ammoniumproduktion der Niere vorlag. Dies scheint zu-

nächst bei der hochgradigen Alkalämie leicht erklärlich. Jedoch liegt hier ein Trugschluß vor, da die Patienten in diesen Fällen durch das in der Niere produzierte NH_3 relativ große Mengen an H^+-Ionen verlieren.

Die Abb. 31 gibt die bei den Patienten der Gruppe 5) mit Lebercirrhose bzw. Leberzelldystrophien erhaltenen Werte an. Hier zeigt sich, wie dies bei dem erhöhten Ammoniumgehalt im Blut nicht anders zu erwarten ist, daß die Niere unter Umständen das Ammonium in hoher molarer Konzentration ausscheidet. Die höchste molare Konzentration wurde bei einer Patientin mit schwerem Leberkom gefunden. Sie betrug 0,75 m, was einem Gehalt von 750 mval/L Ammonium entspricht.

V. Das Verhältnis der sogenannten Titrationsacidität zu den titrierbaren Puffersubstanzen abzüglich des Ammoniums:

Wie vorne ausgeführt wurde, gründet sich der Gedanke der Titrationsacidität darauf, daß eine Möglichkeit besteht, eine Übersicht über den Basenhaushalt zu gewinnen (7). Der ursprünglich von VAN SLYKE und später von GAMBLE und auch von PITTS und seiner Schule angewandte Begriff der Titrationsacidität hat selbstverständlich seine volle Berechtigung. Bei den hier durchgeführten Untersuchungen stellt sich aber die Frage, deckt sich dieser Begriff mit einer der auf diese Weise erfassbaren Puffersubstanzen ? Aus Abb. 12 ist zu ersehen, daß derjenige Wendepunkt der Titrationskurve, welcher, wie vorne näher ausgeführt, dem Ende der Titrationskurve des Phosphats bzw. dem Anfang der Titrationskurve des Ammoniums entspricht, in Abhängigkeit vom pK' der einzelnen Puffer zwischen pH 7,4 und 8,3 schwankt. Dies bedeutet also, daß bei einer Titration lediglich bis pH 7,4 das titrierbare Phosphat nur noch in seltenen Fällen ganz erfaßt werden kann, im übrigen jedoch die Titration vor dem Ende der Titrationskurve für das Phosphat beendet wird.

Bekannt ist aus den Untersuchungen über die titrierbare Säure, daß diese bei Nierensuffizienzen vermindert ist. Ein genaueres Maß hierfür ist in dem Augenblick gegeben, indem man alle durch Titration mit Lauge freisetzbaren H^+-Ionen bis zum Ende des Phosphatpuffers erfaßt. Aus diesem Grunde wurde entsprechend dem Vorgehen beim Ammonium auch hierfür die Korrelation zwischen dem Ausgangs-pH des Urins und dem Verbrauch an Titrationsmittel bis zum Ende der Phosphatpufferkurve bei gesunden Versuchspersonen in einem Diagramm eingezeichnet (Abb. 14). Ebenso wie für das Ammonium läßt sich auch hier bei den gesunden Personen eine allerdings in bestimmten Grenzen schwankende, aber doch feste Korrelation zwischen dem Ausgangs-pH und der bis zum Beginn der Ammonium-

kurve titrierbaren H^+-Ionen erkennen. Auch hier fallen fünf der Korrelationspunkte dadurch auf, daß sie im Verhältnis zum pH zu wenig titrierbare Säure haben. Dies sind dieselben Versuchspersonen, bei denen auch das normale Verhältnis zwischen Ausgangs-pH und Ammoniumsausscheidung in derselben Weise aus der Norm herausfielen. In den Abb. 32 - 35 wurden ebenso wie bei der Korrelation zwischen Ausgangs-pH und Ammonium die hier untersuchten Patienten in Gruppen eingeteilt und die Meßwerte in die entsprechenden Diagramme eingetragen. Bei der Gruppe 1) (Abb. 32) handelt es sich wiederum um Patienten mit nicht schwerwiegender Niereninsuffizienz. Der größte Teil der erhaltenen Korrelationspunkte liegt außerhalb der Norm und zwar in dem Sinne, daß im Verhältnis zum Ausgangs-pH des Urins zu wenig Protonen vorhanden sind. Die drei Meßpunkte oberhalb des Normbereiches stammen von zwei Patienten, die gleichzeitig eine respiratorische Insuffizienz hatten und hohe Standardbicarbonatwerte im Blut aufwiesen, und von einer Patientin mit einem nephrotischen Syndrom. Bei den Patienten mit respiratorischer Insuffizienz (Gruppe 4) ist anzunehmen, daß ihr erhöhter Titrationswert durch das hierbei ausgeschiedene HCO_3^- bedingt ist. Sämtliche Patienten der Gruppe 2) mit manifester Niereninsuffizienz zeigen, sofern ihr Urin-pH unter 6,0 liegt, eine deutlich erniedrigte Phosphatausscheidung (Abb. 33). Aus Abb. 34 ist ersichtlich, daß auch bei den Patienten mit akuter tubulärer Insuffizienz (Gruppe 3) die Ausscheidung von titrierbaren H^+-Ionen im Verhältnis zum Ausgangs-pH verringert ist, sofern der Ausgangs-pH unter 6,0 liegt.

Im Gegensatz zu den Patienten mit einer Niereninsuffizienz zeigen die Meßpunkte der Patienten mit respiratorischer Acidose (Gruppe 4) eine erhöhte Ausscheidung von Protonen (s. o.) in der hier gewählten Darstellung.

Während bei den Vergleichswerten zwischen Ammonium und Ausgangs-pH des Urins sich bei sämtlichen Patienten der Gruppe 5) eine deutlich erhöhte Ammoniumausscheidung nachweisen ließ, liegen sie in der Abb. 35 innerhalb der Norm.

Dies ist nicht anders zu erwarten, da bei ihnen keine Niereninsuffizienz vorliegt.

Als Sonderfälle sollen hier die Titrationskurven zweier Patienten angeführt werden. Nach den klinischen Befunden handelt es sich in Abb. 16 um einen Patienten mit einer Arthritis urica. Hier lassen sich aus der Titrationskurve vier verschiedene Puffer erkennen. Der am Anfang der Kurve erkennbare Puffer ist die Harnsäure. Ihr schließt sich das Phosphat an. Zwischen Phosphat und Ammonium stellt sich ein weiterer Puffer dar, über welchen noch nichts ausgesagt werden kann. Den Schluß der Kurve stellt das Ende der Ammoniumpufferkurve dar.

Die Titrationskurve des Urins in Abb. 19 stammt von einem Patienten mit einer erheblichen CO_2-Vergiftung. Bei ihm findet sich bei einem pH von 6,1 der Wendepunkt, der dem pK von H_2CO_3 entspricht. Dieser Teil der Titrationskurve wird in

diesem Fall zweifellos dadurch bedingt, daß der Patient CO_2 ausscheidet, welches im Urin in Abhängigkeit vom pH desselben dann als H_2CO_3 bzw. als HCO_3 vorliegt. Im Anschluß daran erscheinen das Phosphat und das Ammonium in der Titrationskurve.

VI. Zusammenfassung

Mit einem automatischen Titriergerät wurden bei 40 gesunden Versuchspersonen und bei 43 Personen mit verschiedenen Erkrankungen Titrationskurven des Urins geschrieben. Die Analyse dieser Kurven ergab, daß hierdurch der Ausgangs-pH des Urins, die Titrationsacidität im Sinne von VAN SLYKE, die molare Konzentration des NH_4^+-Ions und die molare Konzentration der noch verbleibenden Puffersubstanzen im Urin abgelesen werden können.

Durch Zugabe von Ammonium bzw. von Phosphat zu verschiedenen Urinen konnte nachgewiesen werden, daß die Bestimmung der molaren Konzentration dieser Substanzen ausreichend genau ist.

Bei den gesunden Versuchspersonen fand sich zwischen dem Ausgangs-pH des Urins, sofern dieser zwischen pH 5,0 und 7,0 lag, und dem Ammoniumgehalt des Urins eine lineare Abhängigkeit in dem Sinne, daß mit fallendem Urin-pH die Ammoniumkonzentration höher wird. Es konnte hierfür ein Normbereich aufgestellt werden. Bei Patienten mit geringgradiger Niereninsuffizienz ist der Ammoniumgehalt des Urins im Verhältnis zum Ausgangs-pH des Urins erniedrigt, bei hochgradiger Niereninsuffizienz wird diese Verminderung der Ammoniumproduktion noch deutlicher. Patienten mit schweren Leberzelldystrophien zeigen auch bei dieser Bestimmungsmethode eine starke Ammoniumkonzentration des Urins.

Die Titrationskurve des Urins gibt die Möglichkeit, Niereninsuffizienzen auf einfachem Wege zu erkennen.

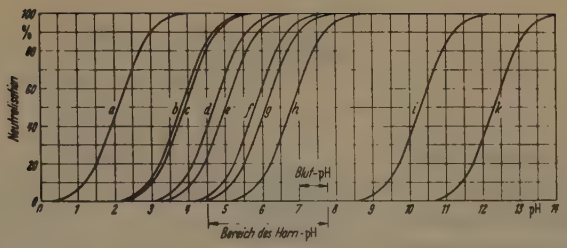


Abb. 24. Dissoziationskurven einiger physiologisch und pathophysiologisch wichtiger Säuren
a H_3PO_4 pK' 2,1, *b* Acetessigsäure pK' 3,8, *c* Milchsäure pK' 3,9, *d* Essigsäure pK' 4,7, *e* β-Oxybuttersäure pK' 5,0, *f* Harnsäure pK' 5,8, *g* H_2CO_3 pK' 6,1[1], *h* H_2PO_4 pK' 6,8[1], *i* HCO_3 pK' 10,3, *k* HPO_4 pK' 12,3

[1] Gültig für Plasma bei Körpertemperatur

Abb. 1 Dissoziationskurven einiger physiologisch und pathophysiologisch wichter Säuren.
(Aus SCHWAB-KÜHNS, Störungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes)

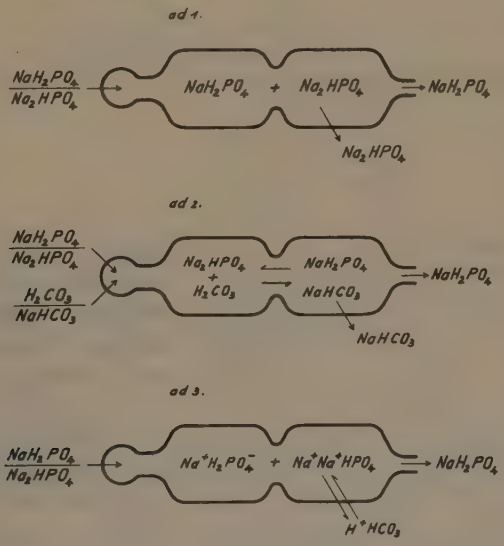


Abb. 2 Schematische Darstellung der drei Theorien zur Säureausscheidung im Urin.

Abb. 3
Schematische Darstellung der Bicarbonatrückresorption im Nierentubulus durch Austausch von H^+-Ionen gegen Na^+-Ionen. (Aus SCHWAB-KÜHNS, Störungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes)

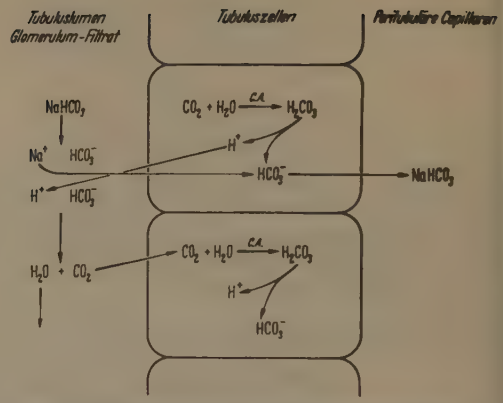


Abb. 22. Die Rückresorption von Bicarbonat (als CO_2) durch den Austausch von H^+- gegen Na^+-Ionen. NB. 1. Mit jedem gebildeten H^+-Ion entsteht auch ein HCO_3^--Ion, welches der extracellulären Flüssigkeit zugeführt wird. 2. Na^+ bleibt der extracellulären Flüssigkeit erhalten

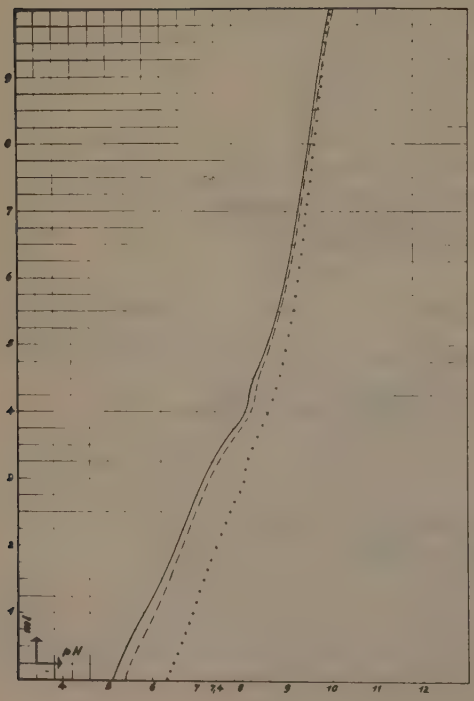


Abb. 4
Abweichung der Kurven desselben Urins bei Titration in größeren zeitlichen Abständen.
——— frischer Urin
- - - - Urin nach 5 h unter Luftabschluß
. . . . Urin nach 41 h unter Luftabschluß

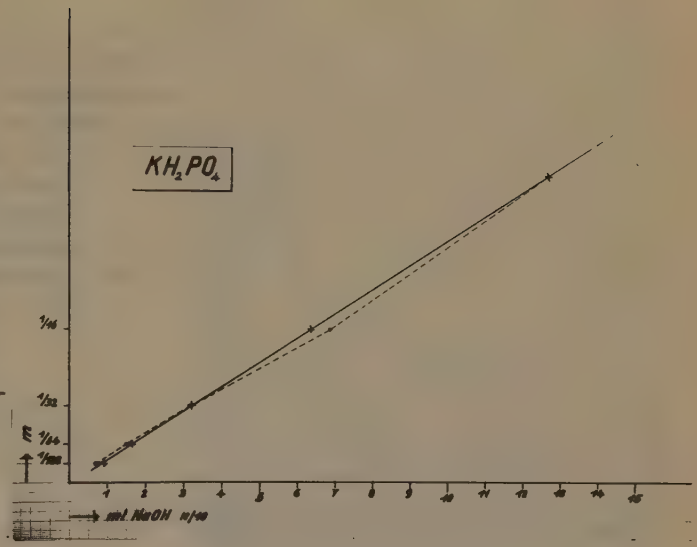


Abb. 5
Abhängigkeit von Verbrauch an Titrationsmittel (TM) zu molarer Konzentration.
—— prim. Phosphat in reiner Lösung
----- nach Zugabe zum Urin gefundene Werte.

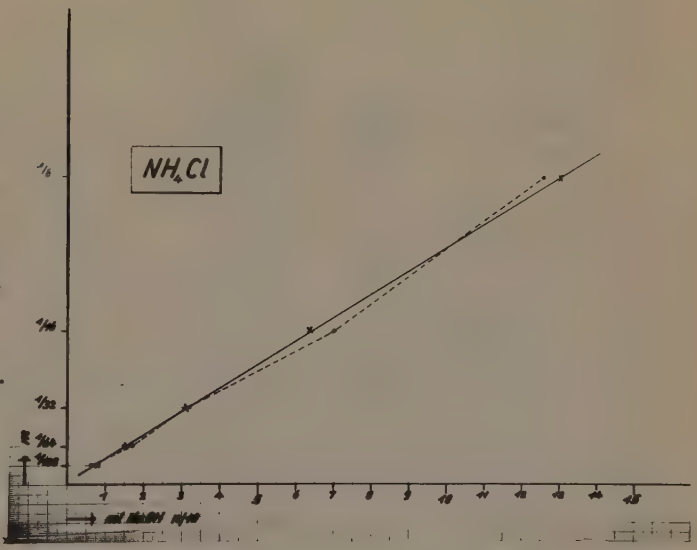


Abb. 6
Abhängigkeit von Verbrauch an TM zu molarer Konzentration.
—— Ammoniumchlorid in reiner Lösung
- - - - nach Zugabe zum Urin gefundene Werte.

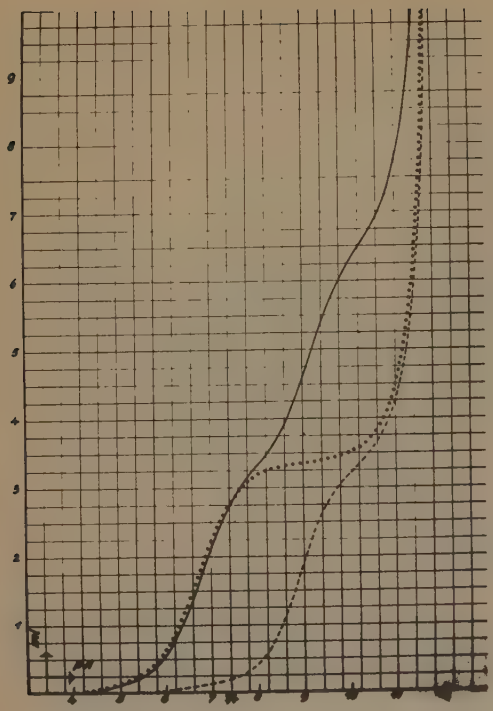


Abb. 7
Verlauf der Titrationskurve eines Gemisches von prim. Phosphat und Ammoniumchlorid
. . . . . reine Phosphatlösung 1/32 m
- - - - - - reine Ammoniumchloridlösung 1/32 m
——— Gemisch beider Stoffe 1/32 m

Tabelle 2.

Stoff	m	Verbrauch in rein. Lösg	Verbrauch im Urin	Differenz in ml	Differenz in %
KH_4PO_4	1/8	12,65 ml	12,65 ml	—	—
	1/16	6,35	6,85	+0,50	7,9
	1/32	3,20	3,20	—	—
	1/64	1,65	1,50	−0,15	9,1
	1/128	0,90	0,70	−0,20	22,2
NH_4Cl	1/8	13,00 ml	12,55 ml	−0,45	3,5
	1/16	6,35	7,00	+0,65	10,2
	1/32	3,10	3,10	—	—
	1/64	1,55	1,70	+0,15	9,7
	1/128	0,80	0,65	−0,15	18,8

Abb. 8
Verlauf der Titrationskurve nach Zugabe von prim. Phosphat und Ammoniumchlorid zum Urin.
——— frischer Urin
- - - - Urin + prim. Phosphat 1/64 m
. . . . Urin + Ammoniumchlorid 1/64 m

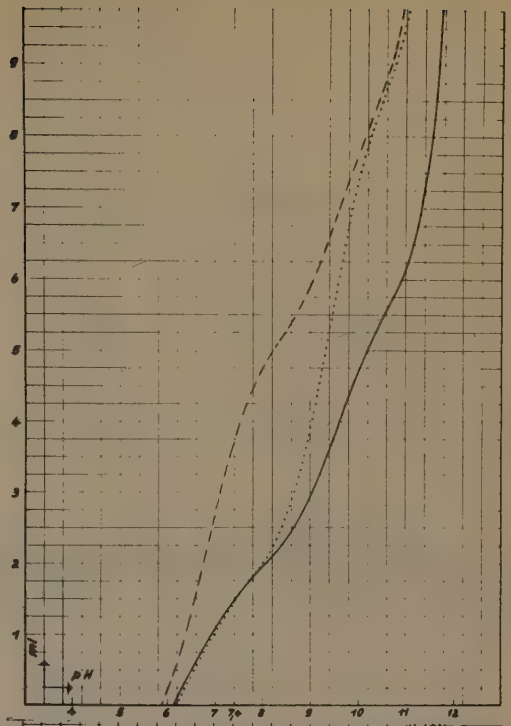
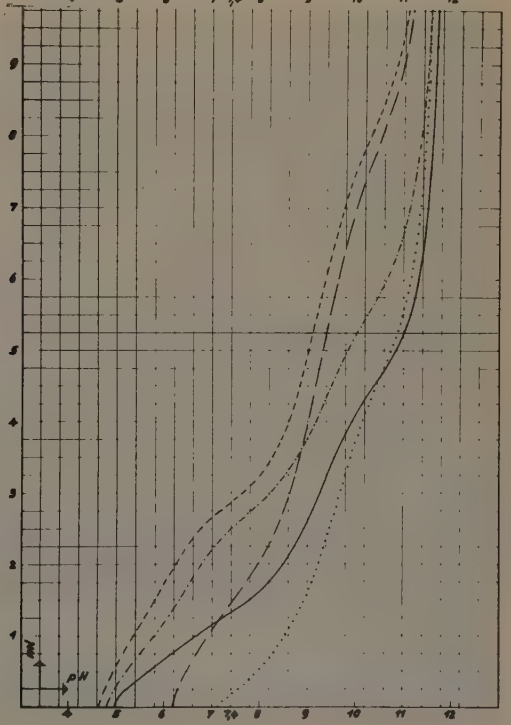


Abb. 9
5 Titrationskurven von Urinen gesunder Erwachsener.



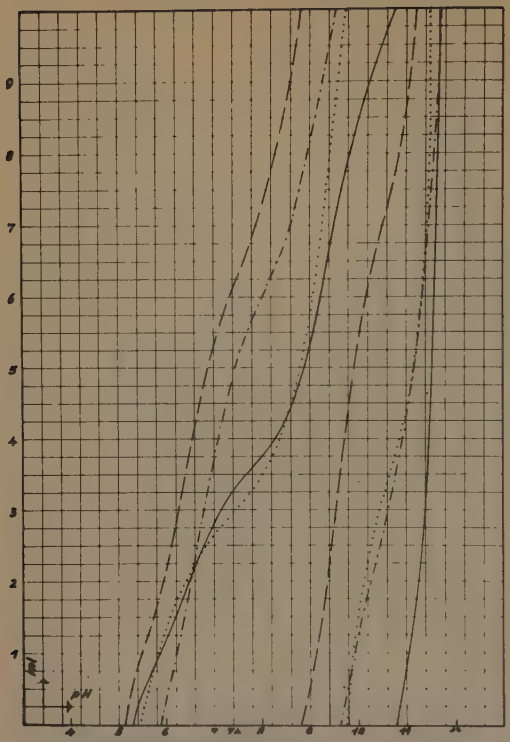
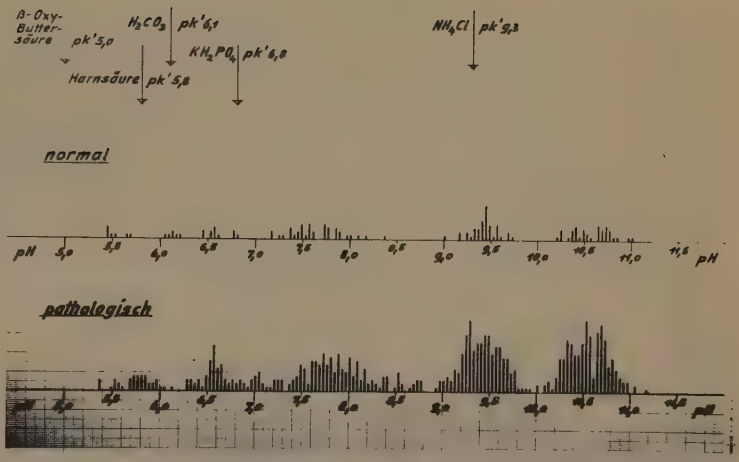
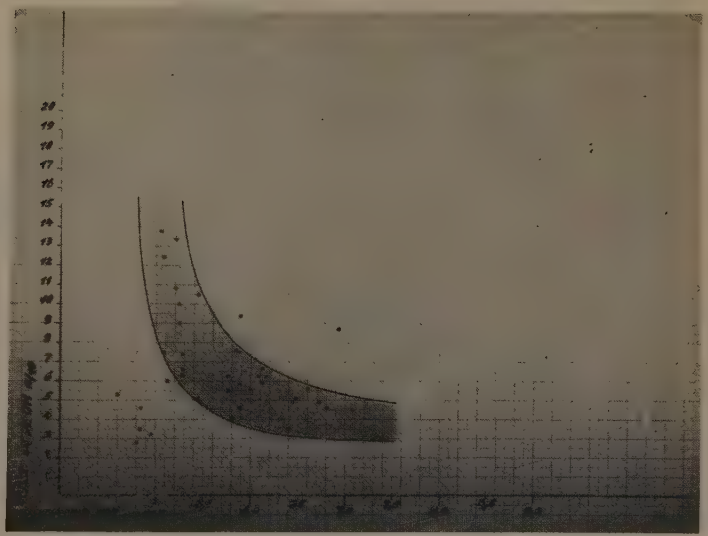


Abb. 10
4 Titrationskurven von Urinen gesun der Erwachsener mit erhöhter Titra-- tionsacidität.

Abb. 11
Verhältnis des Verbrauchs an TM bis pH 7, 4 zum Verbrauch an TM bis zu ganzzahligen pH-Stufen.
x = pH 8, 0
o = pH 9, 0
● = pH 10, 0
+ = pH 11, 0
Urine gesunder Erwachsener.
Der dunkel getönte Bereich zeigt die Überschneidung der Bereiche von pH 10, 0 und 11, 0.



ɔb. 12
reuung der einzel-
:n Wendepunkte
/P) in Bezug zum
I.
ızu die pK'-Werte
niger Puffersäuren.



bb. 13
eziehung zwischen
ɔolarer Konzentra-
on des Ammoniums
ım Ausgangs-pH des
rins gesunder Er-
achsener.
unkel getönt der ein-
eutig abgrenzbare Be-
ich der Norm.

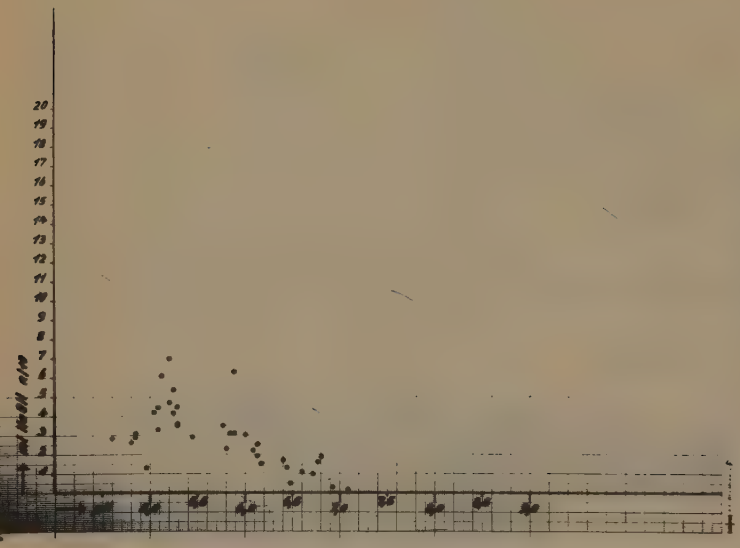


Abb. 14
Beziehung zwischen
Verbrauch an TM b
pH 11,0 abzüglich
für Ammonium ver
brauchten Menge u
Ausgangs-pH des
Urins gesunder Er-
wachsener.

Abb. 15
Beziehung zwischen
Verbrauch an TM b
pH 11,0 abzüglich
für Ammonium ver
brauchten Menge u
Verbrauch an TM f
Ammonium im Uri
gesunder Erwachsen

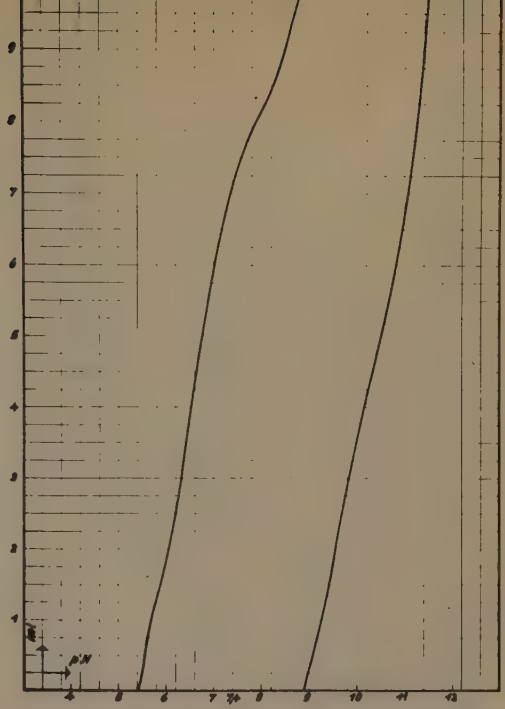


Abb. 16
Titrationskurve des Urins eines Patienten mit Arthritis urica. Charakteristische Kurvenveränderung durch hohe Konzentration der Harnsäure (pK' 5, 8) im Urin.

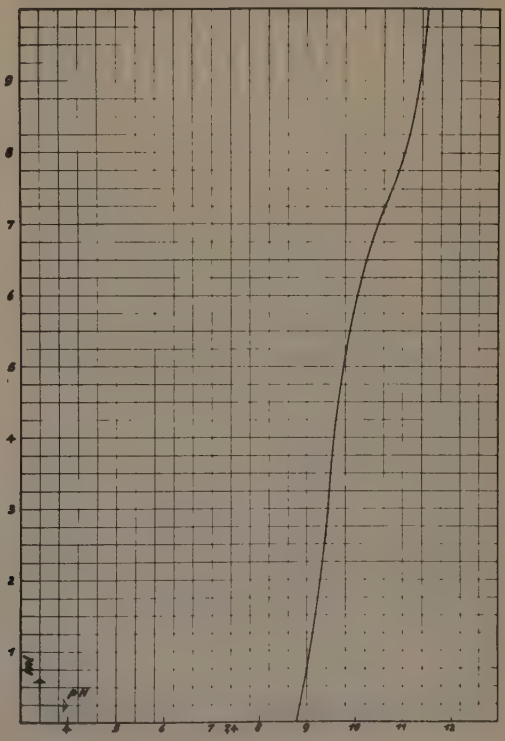


Abb. 17
Titrationskurve einer Patientin aus Gruppe III (akute tubuläre Insuff.).

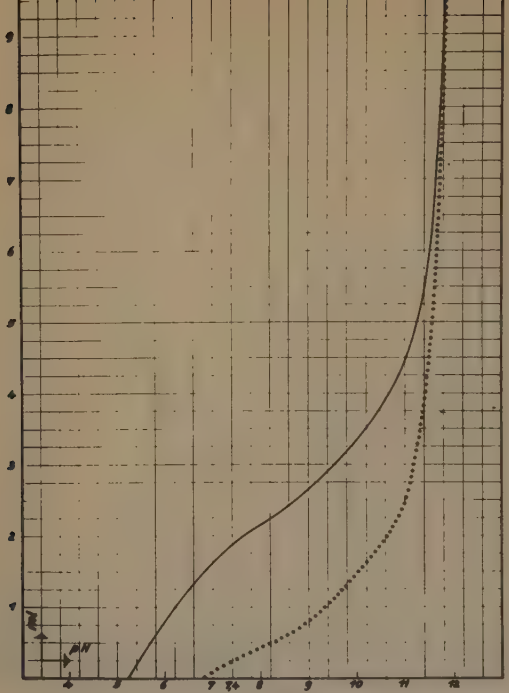


Abb. 18
Titrationskurven des Urins zweier Patientinnen der Gruppe II (schwere Niereninsuffizienz). Charakteristischer Kurvenverlauf: keine titrierbare Ammoniumausscheidung.
(NH_4Cl pK' 9, 3)

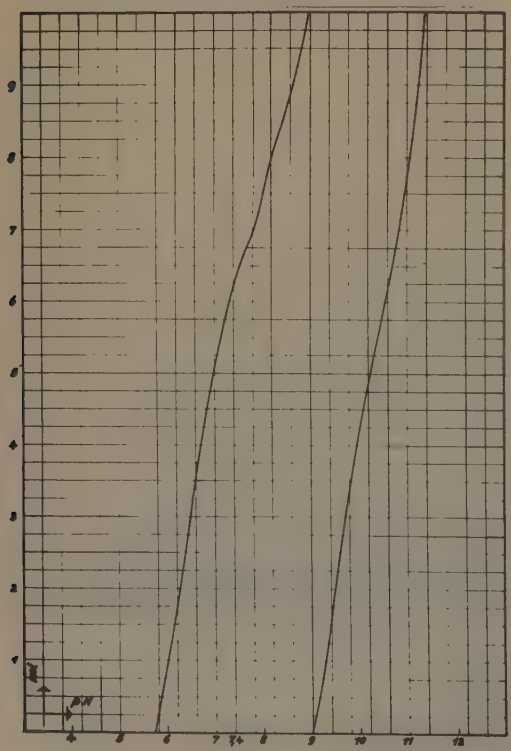


Abb. 19
Titrationskurve des Urins eines Patienten mit schwerer CO_2-Vergiftung.
Charakteristische Kurvenveränderung durch erhöhte Bicarbonatausscheidung.
(H_2CO_3 pK' 6, 1)

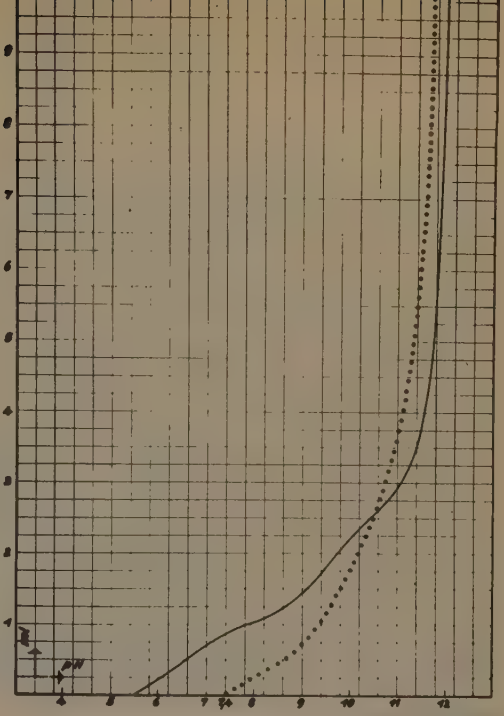


Abb. 20
Kurven eines Patienten mit schwerer Niereninsuffizienz durch Cystenniere.
——— Titrationskurve des Urins
. . . . Titrationskurve des Cysteninhaltes (bei Operation gewonnen) enthält keinerlei titrierbare Säure.

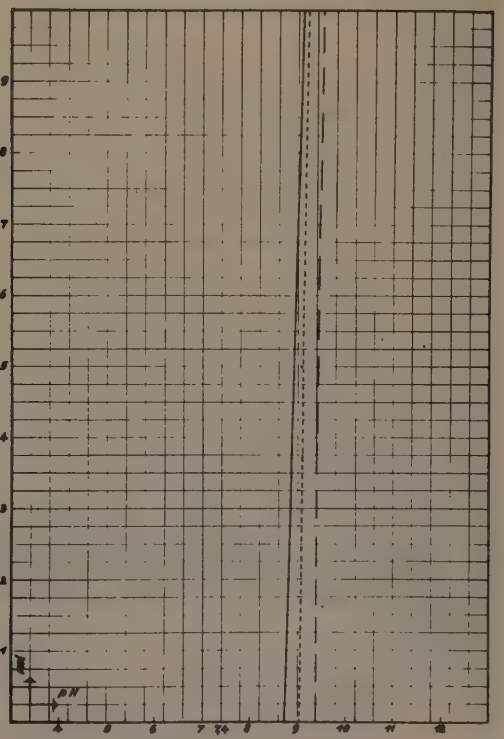


Abb. 21
Beginn von 3 Titrationskurven des Urins einer Patientin der Gruppe V (Leberzelldystrophie, Lebercirrhose), an drei verschiedenen Tagen gewonnen. Stark erhöhte Titrationsacidität (betrifft Ammonium).

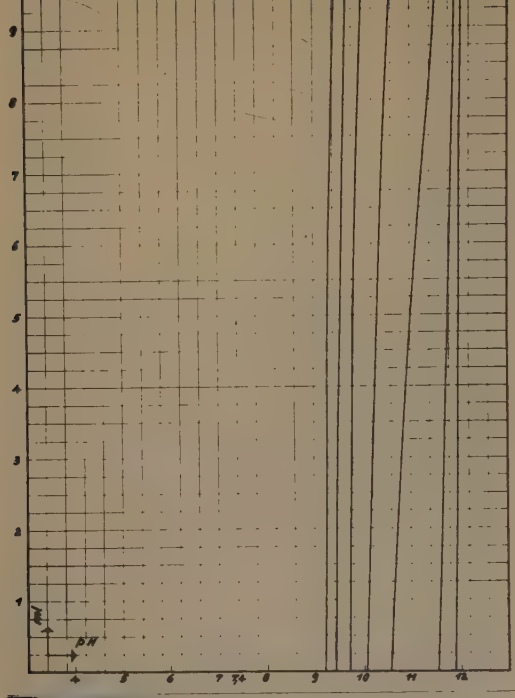


Abb. 22
Titrationskurve einer Patientin der Gruppe V (Leberzelldystrophie, Lebercirrhose). Sehr stark erhöhte Ammoniumausscheidung.
(NH_4^+ pK' 9,3)

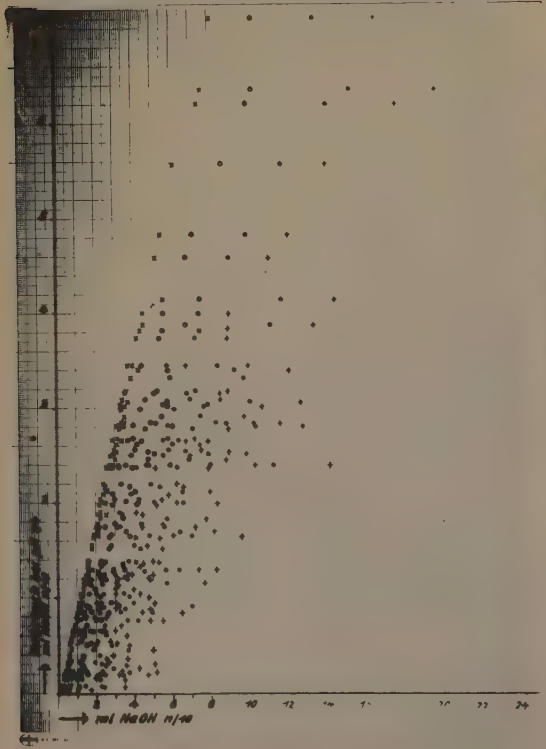
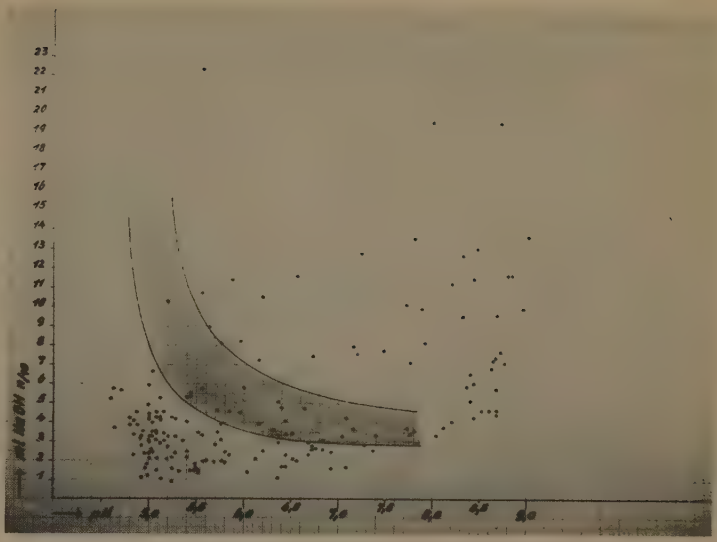


Abb. 23
Verbrauch an TM bis zu ganzzahligen pH-Stufen in Abhängigkeit zum Verbrauch an TM bis pH 7,4.
Urin von Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen.
(Vgl. Abb. 11)
x = pH 8,0
o = pH 9,0
● = pH 10,0
+ = pH 11,0

b. 24
ziehung zwischen
larer Konzentra-
n des Ammoniums
l dem Ausgangs-
des Urins von Pa-
nten mit unter-
iedlichen Erkran-
igen. Dunkel ge-
t der Bereich der
rm.
gl. Abb. 13)



b. 25
ziehung zwischen
brauch an TM
pH 11,0 abzüglich
Verbrauchs für
monium und dem
gangs-pH des Urins
Patienten mit un-
schiedlichen Erkran-
igen.
gl. Abb. 14)

Abb. 26
Beziehung zwische
Verbrauch an TM
pH 11, 0 abzüglich
des Verbrauchs für
Ammonium und Ve
brauch an TM für
Ammonium des Uri
von Patienten mit
terschiedlichen Erk
kungen.
(Vgl. Abb. 15)

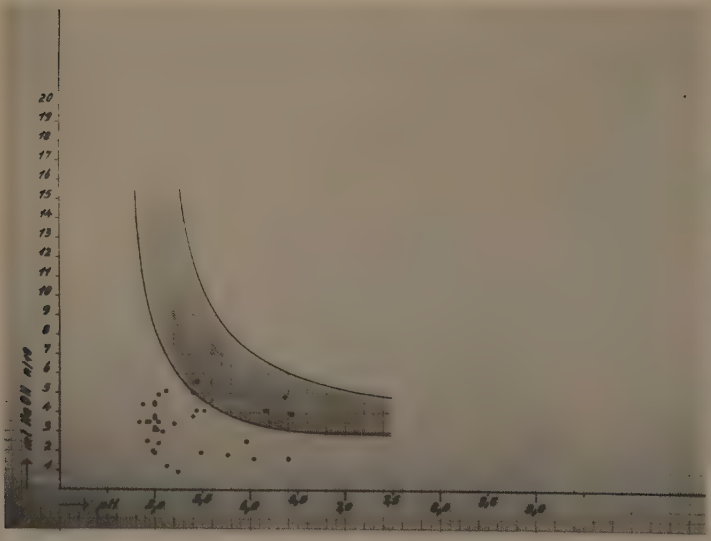
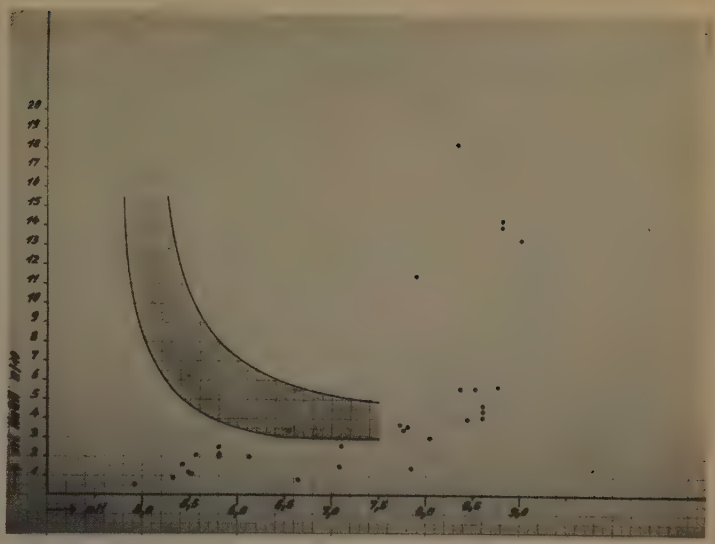
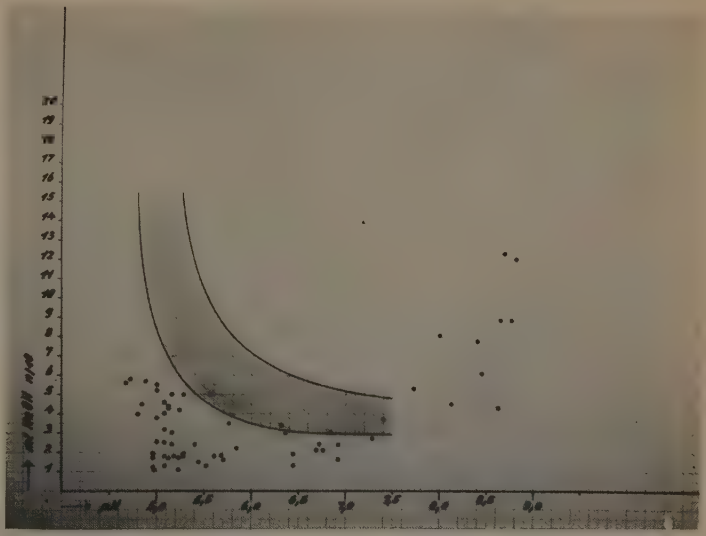


Abb. 27
Beziehung zwischen
molarer Konzentra-
tion des ausgeschie
denen Ammoniums
und dem Ausgangs-
des Urins von Patie
ten der Gruppe I
(leichte Niereninsuffizienz).

t. 28
iehung zwischen
.arer Konzentration
ausgeschiedenen
monіums und dem
gangs-pH des Urins
Patienten der
ppe II (schwere
reninsuffizienz).
im Bereich rechts
oben gelegenen
kte täuschen eine
öhte Ammoniumaus-
eidung vor; sind aber
ch bakterielle Harn-
sinfektionen verur-
nt.
l. Abb. 30)



). 29
iehung zwischen
larer Konzentra-
n des ausgeschie-
en Ammoniums
dem Ausgangs-
des Urins von Pa-
nten der Gruppe III
ute tubuläre In-
fizienz).



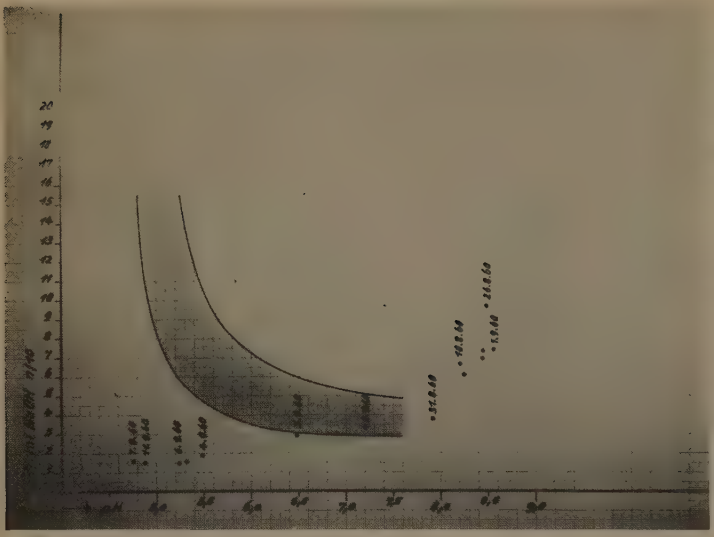


Abb. 30
Beziehung zwischen molarer Konzentration des ausgeschiedenen Ammoniums und dem Ausgangs-pH des Urins einer Patientin mit akuter tubulärer Insuffizienz bei gleichzeitig vorhandener Harnwegsinfektion. Nach Abklingen der Infektion zeigt sich die stark verminderte Ammoniumausscheidung.

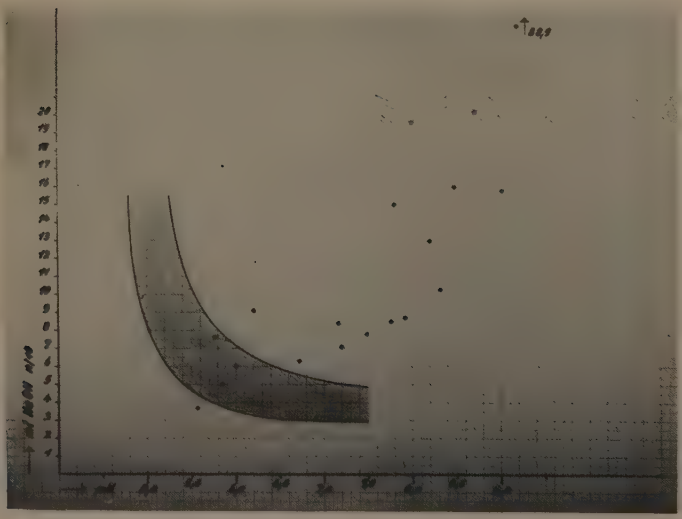
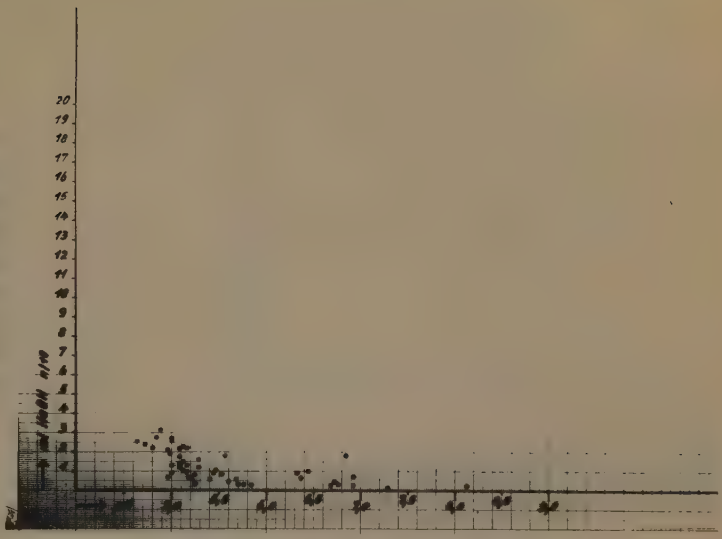


Abb. 31
Beziehung zwischen molarer Konzentration des ausgeschiedenen Ammoniums und dem Ausgangs-pH des Urins von Patienten der Gruppe V (schwere Leberzelldystrophie und Lebercirrhose). Allgemein erhöhte Ammoniumausscheidung.

. 32
ehung zwischen
brauch an TM bis
1, 0 abzüglich des
brauchs für Ammon-
und dem Aus-
gs-pH des Urins von
enten der Gruppe I
chte Niereninsuff.)



. 33
ehung zwischen
Verbrauch an TM
pH 11, 0 abzüglich
Verbrauchs für
monium und dem
gangs-pH des Urins
Patienten der
ppe II
were Niereninsuff.)

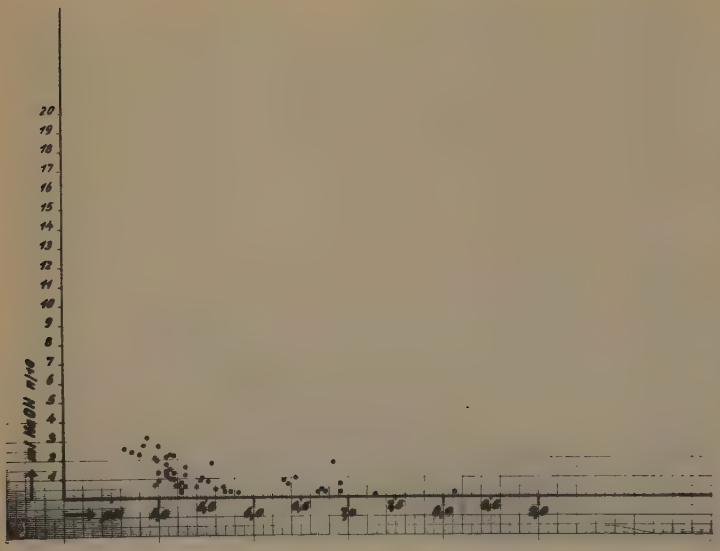


Abb. 34
Beziehung zwischen d
Verbrauch an TM bis
pH 11,0 abzüglich de
Verbrauchs für Ammo
ium und dem Ausgang
pH des Urins von Pa-
tienten der Gruppe II
(akute tubuläre Insuff

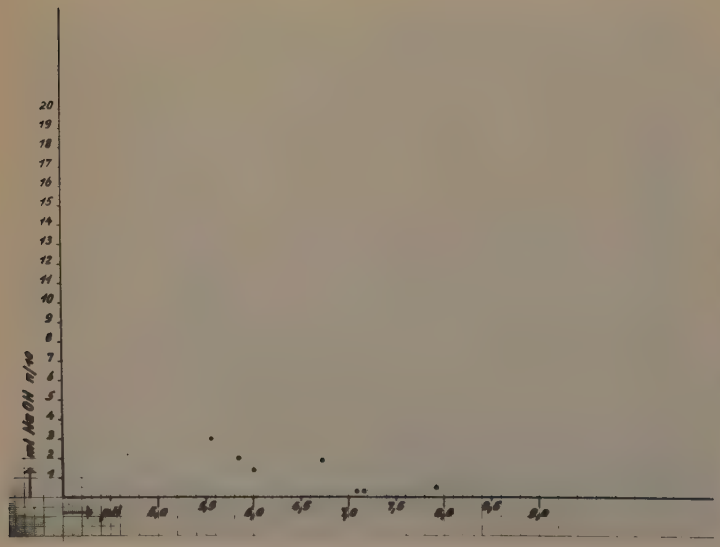


Abb. 35
Beziehung zwischen d
Verbrauch an TM bis
pH 11,0 abzüglich de
Verbrauchs für Ammo
ium und dem Ausgang
pH des Urins von Pa-
tienten der Gruppe V
(schwere Leberzell-
dystrophie und Leber-
cirrhose).

LITERATURVERZEICHNIS

1) Berliner, R. W., Kennedy, T. J. jr., Orloff, J.: Relationship between acidification of the urine and potassium metabolism. Am. J. Med. 1951, 11/274

2) Bladergroen: Physikal. Chemie in Medizin und Biologie. Wepf u. Co Basel 1949

3) Bliss, S.: The amide nitrogen of blood. III. Muscular exercise: The role of ammonia in the neutralisation of lactic acid. J. Biol. Chem. 1929, 81/137

4) Brazeau, P., Gilman, A.: Effect of plasma CO_2 tension on renal reabsorption of bicarbonate. Am. J. Physiol. 1953, 175/33

5) Brönsted, J. N.: Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 1923, 42/718

6) Davenport, H. W.: The ABC of acid-base chemistry. Chicago, University Press 1956

7) Gamble, J. L.; Ross, G. S., Tissdall, F. F.: The metabolism of fixed base during fasting. J. Biol. Chem. 1923, 57/633

8) Henderson, L. J.: A critical study of the process of acid excretion. J. Biol. Chem. 1911, 9/403

9) Keeton, R. W. P.: Ammonia excretion following experimental administration of acids via the stomach and peripheral vein. J. Biol. Chem. 1921, 49/411

10) Krebs, H. A.: Untersuchungen über den Stoffwechsel der Aminosäuren im Tierkörper. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1933, 217/191 und 1933, 218/157

11) Loeb, R. F.; Atchley, D. W.; Benedict, E. M.: Observations on the origin of urinary ammonia. J. Biol. Chem. 1924, 60/491

12) Madison, L. L.; Seldon, D. W.: Ammonia excretion and renal enzymatic adaption in human subjects, as disclosed by administration of precursor amino acids.

13) Mann, F. C.; Bollmann, J. L.: The formation of ammonia following complete removal of the liver. Am. J. Physiol. (Proc.) 1928, 85/390

14) Michaelis, L.: Ionentheorie I und II, Springer-Verlag, Berlin 1933

15) Montgomery, H.: Pierce, I. A.: The site of acidification of the urine within the renal tubule in amphibia. Am. J. Physiol. 1937, 118/144

16) Nash, T. P. jr.; Benedict, S. R.: The ammonia content of the blood and its bearing on the mechanism of acid neutralization in the animal organism. J. Biol. Chem. 1921, 48/463

17) Peters-van Slyke: Quantitat. clin. chem. Vol. I. Interpretation, 1932

18) Pitts, R. F.; Lotspeich, W. D.: Factors governing the rate of excretion of titratable acid in the dog. Am. J. Physiol. 1946, 147/481

19) Pitts, R. F.; Ayer, J. L.; Schiess, W. A.: The renal regulation of acid-base balance in man. III. The reabsorption and excretion of bicarbonate. J. Clin. Invest. 1949, 28/35

20) Pitts, R. F.; Alexander, R. S.: The nature of the renal tubular mechanism for acidifying the urine. Am. J. Physiol. 1945, 144/239

21) Pitts, R. F.: Renal excretion of acid. Fed. Proc. 1948, 7/418

22) Pitts, R. F.: The comparison of urea with urea-ammonia clearances in acidotic dogs. J. Clin. Invest. 1936, 15/571

23) Rabinowitch, J. M.: Studies concerning the origin of urinary ammonia. III. J. Biol. Chem. 1926, 69/283

24) Rector, F.C.; Seldin, D.W.; Copenhaver, J.H.: The mechanism of ammonia excretion during ammonium chloride acidosis. J. Clin. Invest. 1955, 34/20

25) Rector, F.C. jr.; Orloff, J.: The effect of the administration of sodium bicarbonate and ammonium chloride on the excretion and production of ammonia. The absence of alterations in the activity of renal ammonia-producing enzymes in the dog. J. Clin. Invest. 1959, 38_I/366

26) Roberts, K.E.: Acidose und Alkalose. Klinische Wochenschrift 1957, 997

27) Ryberg, C.: Acta physiol. Scandinav. 1948, 15/161

28) Sartorius, O.W.; Roemmelt, J.C.; Pitts, R.F.: The renal regulation of acid-base balance in man. IV. The nature of the renal compensations in ammonium chloride acidosis. J. Clin. Invest. 1949, 28/423

29) Schiess, W.A.; Ayer, J.L.; Lotspeich, W.D.; Pitts, R.F.: The renal regultion of acid-base balance in man. II. Factors affecting the excretion of titratable acid by the normal human subject. J. Clin. Invest. 1948, 27/57

30) Schwartz, W.B.; Bank, N.; Cutler, R.W.P.: The influence of urinary ionic strength on phosphate pK'_2 and the determination of titratable acid. J. Clin. Invest. 1959, 38_I/347

31) Sendroy, J. jr.; Seelig, S.; van Slyke, D.D.: J. Biol. Chem. 1934, 106/479

32) van Slyke, D.D.; Phillips, R.A.; Hamilton, P.B.; Archibald, R.M.; Futcher, P.H.; Hiller, A.: Glutamine as source material of urinary ammonia. J. Biol. Chem. 1943, 150/481

33) Smith, H.W.: The physiology of the kidney. Oxford Univ. Press 1937

An dieser Stelle möchte ich Herrn Doz. Dr. Hans-Peter Missmahl für seine wertvollen Hinweise und Anregungen herzlich danken.

Lebenslauf

Am 20. Juni 1936 wurde ich als Sohn des Oberstudienrates und Diplom-Ingenieur Karl Conrad und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Bölz, in Stuttgart geboren und auf den Namen Klaus getauft. Ich bin deutscher Staatsangehörigkeit und evangelischer Konfession.

Im Herbst 1942 trat ich in die Rosenberg-Grundschule ein. Nach Kriegsende besuchte ich das Eberhard-Ludwig-Gymnasium in Stuttgart und legte im Frühjahr 1957 die Reifeprüfung ab.

Das Studium der Medizin begann ich im Sommersemester 1957 in Tübingen. In der Zeit bis zum Physikum absolvierte ich den Krankenpflegerdienst in der Nervenklinik Christophbad in Göppingen und in der chirurgischen Klinik des Katharinenhospitals in Stuttgart. Das Physikum bestand ich nach dem 5. Semester im Sommer 1959 in Tübingen. In den folgenden Semestern famulierte ich im Anatomischen Institut in Tübingen, zweimal im Präparierkurs und einmal im histologischen Kurs, um meine anatomischen Kenntnisse zu erweitern und zu festigen. Gleichzeitig begann ich in der Medizinischen Universitätsklinik in Tübingen mit dem experimentellen Teil meiner Dissertation unter Anleitung von Oberarzt Dozent Dr. Missmahl. Während der Semesterferien war ich als Famulus zwei Monate in der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen bei Prof. Bennhold und zwei Monate in der chirurgischen Klinik des Katharinenhospitals in Stuttgart bei Prof. Gross tätig. Im April 1961 war ich über den Akademischen Austauschdienst vier Wochen an der Chirurgischen Universitätsklinik Toulouse bei Prof. Grimoux und Prof. Engjalbert.

In den verschiedenen Fachgebieten der Medizin wurde ich von den Lehrern der Tübinger Medizinischen Fakultät unterrichtet, bei welchen ich auch am 18. Dezember 1962 das Staatsexamen abgelegt habe.